

Fortpflanzung bei Ornithodoros moubata und genitale Übertragung von Borrelia duttoni

Inauguraldissertation

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der

Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

Olga Wagner-Jevseenko

aus Ravensburg (Deutschland)



Basel 1958

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät auf
Antrag der Herren Professoren R. GEIGY und A. PORTMANN.

Basel, den 4. März 1958.

Dekan: Kuno Meyer.

Schweizerisches Tropeninstitut Basel.
Zoologische Anstalt der Universität Basel.

**Fortpflanzung bei *Ornithodoros moubata* und
genitale Übertragung von *Borrelia duttoni*.**

Von OLGA WAGNER-JEVSEENKO.

Inhalt

I. EINLEITUNG	119
1. Fragestellung	119
2. Material und Technik für die morphologisch-histologischen Untersuchungen	119
II. MÄNNLICHER GESCHLECHTSAPPARAT	121
1. Morphologie	121
2. Histologie des männlichen Genitalapparates und Bildung der männlichen Geschlechtsprodukte	124
a) Spermatogenese, Chromosomenverhältnisse und Spermiophorenbildung	124
b) Anhangdrüse und Spermatophorenbildung	136
III. WEIBLICHER GESCHLECHTSAPPARAT	139
1. Morphologie	139
2. Oogenese und Chromosomenverhältnisse	140
IV. DIE COPULATION UND IHRE AUSWIRKUNGEN	144
1. Copula	144
2. Schicksal der Spermiophoren in den weiblichen Geschlechtswegen	146
3. Versuche zum Nachweis der Befruchtung	149
V. DISKUSSION DES BEFRUCHTUNGSPROBLEMS	152
1. Möglichkeiten einer parthenogenetischen Entwicklung bei Zekken nach früheren Autoren	152
2. Eigene Versuche zur Parthenogenese von <i>O. moubata</i>	153
3. Zusammenfassende Diskussion	156
a) Tendenz zur Parthenogenese	156
b) Bedeutung der Copula	157
c) Auflösung des Kernapparates im reifen Ei; Bereitstellung der weiblichen Erbsubstanz	157
d) Bereitstellung der männlichen Erbsubstanz; Befruchtung durch Diffusion?	158
VI. INFektions-VERSUCHE	159
1. Einleitung	159
2. Material und Technik	159
3. Die Infektion der männlichen Geschlechtsorgane	160
4. Können bei der Copula Borrelien übertragen werden?	162
VII. LITERATUR-VERZEICHNIS	164
VIII. ZUSAMMENFASSUNG	166

I. Einleitung.

1. Fragestellung.

Die afrikanische Zecke *O. moubata* ist als Überträger des Rückfallfieber-Erregers *Borrelia duttoni* bekannt. Verschiedene Autoren haben sich bereits mit dem Problem des Infektionsverlaufes in dieser Zecke befaßt; die ausführlichste Studie hierüber stammt von W. BURGDORFER (1951). Nach dem Saugen der Zecke an einem infizierten Menschen oder Versuchstier dringen die Erreger aus dem aufgenommenen Blut über den Zeckendarm in die Leibeshöhle vor und gelangen von dort in verschiedene innere Organe. Insbesondere siedeln sie sich im Ovar, in der zentralen Ganglienmasse, in Coxalorgan und Speicheldrüse an. Es findet eine Vermehrung der Erreger statt, und das Tier bleibt von da an dauernd infektiös. Die in den Eizellen reichlich vorhandenen Borrelien können auf die Nachkommen, welche aus solchen Eiern hervorgehen, übertragen werden. Die transovariale Übertragung ist bereits untersucht worden (vergleiche z. B. BURGDORFER 1951 und GEIGY, WAGNER, AESCHLIMANN 1954). Eine detaillierte diesbezügliche Studie von A. AESCHLIMANN ist kürzlich in dieser Zeitschrift erschienen (1958).

Wir stellten uns nun die Frage, ob und in welchem Ausmaß auch die männlichen Genitalorgane und Geschlechtsprodukte den Erreger aufzunehmen vermögen. Sollte sich ihre Infektibilität bestätigen, so gilt es weiter zu untersuchen, ob eine genitale Übertragung der Borrelien mit Sperma oder mit Anhangdrüsen-Sekret während der Begattung auf das Weibchen stattfinden kann. Damit wäre ein neuer Weg für die Verbreitung von *B. duttoni* unter den Zecken aufgezeigt. Vorbedingung zur Aufklärung dieser Frage war das Studium des im einzelnen noch nicht beschriebenen männlichen und weiblichen Genitalapparates sowie der Spermatogenese und Ovogenese, der Copulation und der Besamung. Obwohl verschiedene Arbeiten über die Gonadenverhältnisse der Ixodoidea vorlagen, so sind wir doch bei *O. moubata* zu gewissen neuen Erkenntnissen gekommen, die uns zu einer Ausdehnung unserer Untersuchungen nach der morphologisch-histologischen Seite hin veranlaßt haben.

Ich möchte nicht verfehlen, an dieser Stelle meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. R. GEIGY, für die Überlassung dieses anregenden Themas, vor allem aber für seine vielfache Unterstützung und die wertvollen Ratschläge bei meinen Untersuchungen, meinen herzlichsten Dank auszusprechen. Herrn Prof. MATTHEY (Lausanne), dem hervorragenden Fachmann für Chromosomenverhältnisse, habe ich meine Präparate und Ergebnisse ebenfalls vorlegen dürfen und bin von ihm bestens beraten worden. Für seine freundlichen Bemühungen, die mir außerordentlich wertvoll waren, möchte ich ihm verbindlich danken.

2. Material und Technik für die morphologisch-histologischen Untersuchungen.

Die für unsere Untersuchungen verwendeten Zecken stammen aus der Zucht des Tropeninstituts in Basel, welche öfters durch Frischimporte, speziell aus Tanganyika, ergänzt wurde. Für alle Infektionsversuche bedienten wir uns einer reinen Zucht. Die Züchtungs- und Infektions-Methoden, inkl. das Halten reiner Zeckenstämme, sind von R. GEIGY und A. HERBIG 1955 (S. 335—337) beschrieben worden.

Um die Morphologie des männlichen Geschlechtsapparates untersuchen zu können, ging man folgendermaßen vor. Die Tiere wurden in einer mit geruchtem

Paraffin ausgegossenen Petrischale unter Insektenringer seziert. Nachdem die dorsale Chitindecke des Tieres vollkommen entfernt war, präparierte man den dünnwandigen Magensack, der den Genitaltraktus verdeckt, vorsichtig ab. Das durch den dunkelfarbigigen Darminhalt unübersichtlich gewordene Objekt wurde sodann mit Insektenringer ausgewaschen, um die Vesiculae seminales und den genitalen Drüsenkomplex gut sichtbar zu machen. Zur vollkommenen Freilegung des Geschlechtsapparates entfernte man noch alle übrigen Organe und zupfte vorsichtig die Tracheen und Tracheolen weg, die die Testes dicht umspinnen. Die Länge des herauspräparierten, ausgestreckten Genitalapparates beträgt ca. 2 cm, wovon der Drüsenkomplex ca. 2,5 mm einnimmt. Zur Herstellung der histologischen Schnitte wurde das Material hauptsächlich nach Bouin-Dubosq, Carnoy und Flemming fixiert. Färbungen erfolgten mit Azan, Prenant, Eisenhämatoxylin nach Heidenhain und mit Feulgen zum Nachweis der Desoxyribonucleinsäure. Die Fixierung nach Flemming und die Färbung mit Hämatoxylin lieferten die besten Resultate. Für das Studium der Chromosomenverhältnisse und der Spermioghistogenese wurden Quetschpräparate und Ausstriche der Hoden hergestellt. Im ersten Falle verwendeten wir nur die Keimzone des Hodens und fixierten sehr kurz (3 Min.) in 50%iger Essigsäure. Anschließend färbten wir nach Feulgen. Für die Untersuchung der Spermioghistogenese mußte der Hodeninhalt sehr vorsichtig ausgedrückt und schnell in einem hängenden Tropfen Insektenringer mit Osmiumsäuredämpfen fixiert werden. Die Färbung erfolgte dann mit Hämatoxylin. Um durch die Fixierung entstandene Artefakte auszuschließen, untersuchten wir zusätzlich in-vivo-Präparate aus den Testes mit dem Dunkelfeld- und Phasenkontrastmikroskop.

Für den weiblichen Genitalapparat galten wieder andere Methoden. Vor dem Einsetzen der Dotterbildung läßt sich das Zeckenövar mit den gebräuchlichen Fixierungsmitteln behandeln (Bouin-Dubosq, Carnoy, Flemming usw.) und ohne Schwierigkeiten schneiden. Der Dotterreichtum der heranreifenden Eizellen und besonders der reifen Eier gestaltet dagegen die cytologischen Untersuchungen schwierig. Aus diesem Grunde mußte man mehrere Methoden, besonders für die Einbettung, ausprobieren, um einigermaßen befriedigende Resultate zu erzielen. Für die Färbung nach Feulgen, die wir hauptsächlich durchführen mußten, erwies sich die Fixierung nach Carnoy am günstigsten, sie hatte aber leider die nachteilige Nebenwirkung, den Dotter spröde zu machen. Trotz allem konnten wir brauchbare Schnitte bekommen. Die Fixierungen nach Petrunkevitch und Bouin-Dubosq, die für die dotterreichen Eier der Arthropoden empfohlen sind, konnten wir nur dann anwenden, wenn nicht mit Feulgen gefärbt wurde. Brauchbare Resultate erhielten wir dann mit Hämatoxylin-Delafield. Die gewöhnliche Einbettungsmethode über Methylbenzolat, Benzol und Benzol-Paraffin erwies sich als unbrauchbar. Auch diejenige über Butanol, Butanol-Paraffin und Paraffin gab wenig befriedigende Resultate, selbst wenn ihr die von WAGNER (1892) bei Ixodideneiern verwendete Fixierung in Pereny'scher Flüssigkeit vorausging. Obwohl diese Schnitte nicht rissen, ließen sie sich schlecht färben, und die Dotterkugeln schmolzen zu einer homogenen Masse zusammen. Die Einbettungsmethode mit Phenol nach B. SEIDLER (1940), Modifikation nach GUENIN erwies sich dann schließlich als die günstigste. Das von SEIDLER empfohlene Anschneiden des eingebetteten Objektes und nachfolgende Eintauchen in destilliertes Wasser für 24 Stunden erwies sich für unsere Zwecke allerdings als unvorteilhaft. Infolge übermäßiger Wasseraufnahme quollen nämlich die Eier auch bei kürzerem Eintauchen so stark auf, daß sie sich nachher nicht mehr schneiden ließen. Es wurde deshalb auf das Anschneiden und Eintauchen verzichtet und der Paraffinblock direkt geschnitten; so erhielt man etwa zu 70% verwertbares Material. Quetschpräparate wurden zum Studium der Chromosomenverhältnisse

der Ovogonien und der Entwicklung junger Ovocyten ebenfalls mit Erfolg herangezogen. Man fixierte wie bei den Männchen in 50%iger Essigsäure und färbte nach Feulgen.

II. Männlicher Geschlechtsapparat.

1. Morphologie.

Über die morphologischen Untersuchungen des männlichen Genitalapparates bei den der Unterordnung Ixodoidea angehörigen Familien Ixodidae und Argasidae liegen bereits Beschreibungen verschiedener Autoren vor. Schon 1852 hat HELLER bei *Argas persicus* Geschlechtsgänge und mehrere Paare von Anhangdrüsen beschrieben, die in die männliche Genitalöffnung einmünden. Seine Beobachtungen sind von PAGENSTECHER (1861 und 1862) bei *Ixodes ricinus* und *Argas reflexus* sowie von CHRISTOPHERS (1906) bei *Ornithodoros savigny* im wesentlichen bestätigt worden, nur daß letzterer den unteren Ausführungsgang als Penis bezeichnete. BONNET untersuchte 1907 *Hyalomma syriacum* und *aegyptum*, *Dermacentor reticulatus* und *Haemaphysalis coccinea* und beobachtete eine starke Uniformität im Bau der Geschlechtsorgane dieser Ixodiden-Arten. Er unterscheidet paarige, tubulöse Testes, Vasa deferentia und umfangreiche Anhangdrüsen, bei welch letzteren er drei histologisch verschiedene Strukturen findet. ROBINSON und DAVIDSON (1913—1914) sowie OPPERMANN (1935) lieferten Beschreibungen für die Argasiden-Arten *A. persicus* bzw. *A. columbarum*, deren männliche Genitalorgane weitgehende Ähnlichkeiten und etwa dieselben Abschnitte wie die Ixodiden aufweisen. Ähnliches zeitigten die Untersuchungen von S. YALVAC (1939) an *Hyalomma anatolicum*, nur daß dort regelmäßig die hinteren Enden der Hodenschläuche nicht U-förmig verbunden sind, sondern freiliegen, was übrigens ausnahmsweise auch bei *O. moubata* vorkommt. VITZTHUM (1943) stützt sich bei seiner Wiedergabe des männlichen Genitalsystems der Argasidae hauptsächlich auf die Berichte von CHRISTOPHERS sowie von ROBINSON und DAVIDSON.

Was die allgemeine Morphologie des männlichen Genitalapparates von *O. moubata* anbelangt, so konnten wir die zusammenfassende Beschreibung von VITZTHUM in BRONN's Klassen und Ordnungen des Tierreichs, Bd. 5, 1943 bestätigen. Allerdings wurden wir im Verlauf der histologischen Analyse zu gewissen Berichtigungen hinsichtlich der Interpretation der einzelnen Teile geführt. Dies gilt speziell für den Hodenabschnitt mit der Keimzone sowie für die Ableitung der Geschlechtsprodukte in die Samenblasen.

Der reife männliche Genitalapparat von *O. moubata* mündet, wie bei allen Zecken, im weit vorne hinter dem Capitulum gelege-

nen Genitalporus. Er ist infolgedessen caudo-rostral orientiert. Im abdominalen Abschnitt liegen U-förmig die in der Regel durch einen gelblichen Gewebestrang miteinander verbundenen, stark gewundenen Hodenschläuche, welche vorne in die paarigen Vesiculae seminales einmünden (Abb. 1 und Abb. 2). Dort liegt auch das große Paket der aus verschiedenen Tubuli zusammengesetzten Anhangdrüse. Der erwähnte Verbindungsstrang ist bei alten Adultzecken länger als bei jungen; bei den Nymphen III fehlt dieses Zwischenstück noch völlig, so daß dort die Hodenschläuche direkt aufeinander treffen. Die Vesiculae seminales sind im leeren Zustand dünn und schlauchförmig; mit reifen Geschlechtsprodukten gefüllt, schwellen sie dagegen stark an und liegen sackförmig beiderseits der Anhangdrüse. Diese letztere mündet in das Atrium genitale, welches gewissermaßen die unpaare Fortsetzung der beiden Vesiculae seminales bildet. In diesen leicht chitinierten Endabschnitt des männlichen Apparates wird, wie später noch zu beschreiben ist, mit Hilfe der Anhangdrüsesekrete der Spermatophor gebildet. Wir möchten deshalb davon absehen, von einem Ductus ejaculatorius im üblichen Sinne zu sprechen. Es ist außerdem kein Penis vorhanden.

In der Nymphe III befindet sich die Anhangdrüse noch im Stadium einer unpaaren, einheitlichen Anlage. Sie liegt dem zarten, U-förmigen, noch ungegliederten Hodengebilde als weißliches Körperchen auf. In den letzten drei Nymphenstadien bilden sich daraus die 14 blind endenden Tubuli, von denen 2 unpaar bleiben. In der endgültigen Gestaltung verteilen sie sich wie folgt: Dorso-median liegt der unpaare Drüsenlappen A, der infolge seiner Größe und seiner typischen Doppelgestalt besonders auffällt. An seiner Basis inserieren die paarigen Drüsenlappen B und B' und an den letzteren die ebenfalls paarigen Tubuli C, C'. Seitlich zwischen den beiden Lappen B und C sind fast immer die paarigen, ventral ansetzenden Tubuli D und D' sichtbar. Ventral liegen die besonders zarten und durchsichtigen, paarigen Lobuli E und E', darüber die langen, ausgesprochen tubulösen D und D'. Oberhalb der Geschlechtsöffnung gruppieren sich als ziemlich kompakte Gebilde die paarigen Drüsenlappen H, H', G und G' und der unpaare Tubulus F, der die beiden Paare voneinander trennt (Abb. 1, 1—4). Wir werden später sehen (S. 138), daß in diesen Drüsenlappen drei verschiedene histologische Strukturen angetroffen werden. Ihre endgültige Form und gewebliche Differenzierung wird erst im Lauf des V. und vor allem des VI. Nymphenstadiums erreicht. Die frischgeschlüpfte männliche Adultzecke weist somit einen voll ausgebildeten Geschlechtsapparat auf, und der bei der Nymphe noch geschlossene Genitalporus ist jetzt eröffnet.

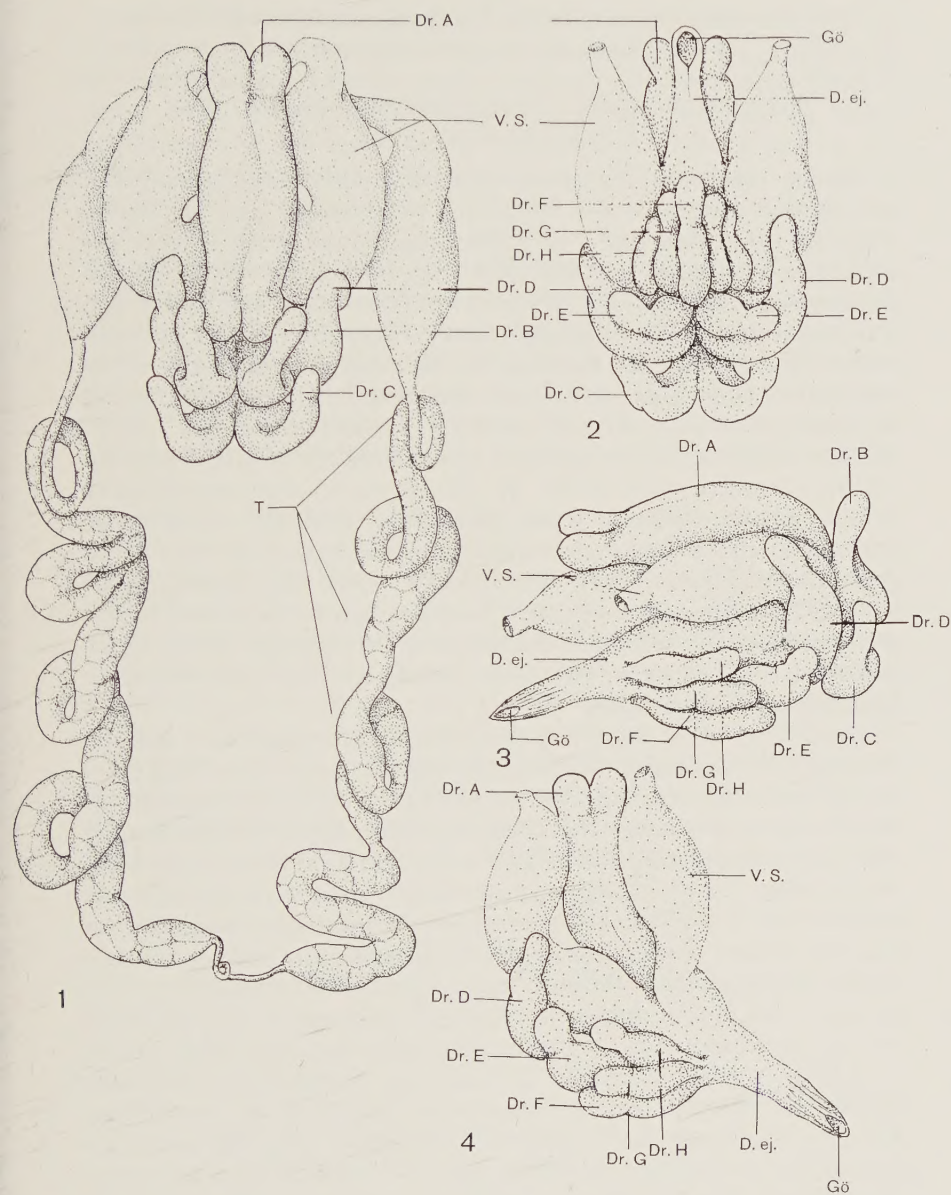


Abb. 1 (1—4). Der männliche Geschlechtsapparat von *O. moubata*. 1: dorsal mit Testes; 2: ventral; 3 und 4: lateral ohne Testes, bei 4 Einmündung der Vesiculae seminales in das Atrium genitale sichtbar. — D. ej.: Ductus ejaculatorius (= Atrium genitale); Dr. A, B, C, D, E, F, G und H: die verschiedenen 6paarigen und 2 unpaaren (A und H) Lappen der Anhangdrüse; T: Testes; Gö: Genital- und 2 unpaaren (A und H) Lappen der Anhangdrüse; V. S.: Vesiculae seminales.

2. Histologie des männlichen Genitalapparates und Bildung der männlichen Geschlechtsprodukte.

a) Spermatogenese, Chromosomenverhältnisse und Spermiophorenbildung.

Bereits mehreren Forschern sind die merkwürdig gestalteten und großen Spermien der Ixodoidea aufgefallen, und sie haben versucht, ihren Bau und ihre Entstehung zu erklären. In der vorgefundenen Literatur herrscht aber manche Kontroverse in der Bezeichnung dieser männlichen Geschlechtsprodukte und in der Art, wie man sich ihre Entwicklung vorstellt. Wir zitieren hier in historischer Reihenfolge die Autoren, die sich mit diesem Problem befaßt haben. Die meisten arbeiteten mit Ixodiden; da wo Studien an Argasiden vorliegen, wird dies besonders erwähnt. LEYDIG (1855), HELLER (1852) an *Argas persicus*, PAGENSTECHER (1861), BERTKAU (1881), CHRISTOPHERS (1906) an *Ornithodoros savignyi*, BONNET (1907), NORDENSKIOELD (1909 und 1920), SAMSON (1909) unter anderem auch an *Ornithodoros moubata*, CASTEEL (1917) an *Argas miniatus*, WARREN (1933), OPPERMAN (1935) an *Argas columbarum*, TUZET und MILLOT (1937) unter anderem auch an *Ornithodoros nicolleti*, *O. turicata* und *Argas persicus*, SHARMA (1944) unter anderem an *A. persicus*, SOKOLOW (1954) an *Ornithodoros tartakowski* und *O. papillipes*.

Die älteren Autoren bis und mit BERTKAU haben sich auf die Beschreibung der reifen Geschlechtsprodukte beschränkt und diese in der Regel als Samenfäden bezeichnet. Von CHRISTOPHERS an folgen eine Reihe mehr oder weniger ausführlicher Schilderungen von Spermatogenesen, wobei sich vor allem eine Unsicherheit bei der Deutung der Spermiogenese zeigt. Bald wird nämlich das Endprodukt derselben als Spermatozoid, bald als Prospermium oder Spermium, dann aber auch als Spermiophor bezeichnet. Die besten Schilderungen stammen von CASTEEL und OPPERMAN, die erstmals die Spermiophorennatur erkannt haben, jedoch noch von Spermatozoon bzw. Prospermium sprachen, während TUZET und MILLOT die treffendste Bezeichnung Spermiophor erstmals einführten. Gestützt auf die wertvolle Vorarbeit der genannten Autoren, haben wir das Studium der Spermato- und Spermiogenese bei *O. moubata* vertiefen können und versucht, ein möglichst klares Bild dieser komplizierten Vorgänge zu gewinnen.

So wie die Weibchen der Argaside *O. moubata* (im Gegensatz zu wohl allen Ixodiden-Weibchen) mehrmals zur Eiablage schreiten können, sind auch die Ornithodoros-Männchen mehrmals begattungsfähig. Schon in den männlichen Nymphen ist der normale Ablauf der Spermatogenese und die Verwandlung zur Adultzecke

von einer Blutmahlzeit abhängig. Ähnliches gilt aber auch für die Fortdauer der Spermatogenese beim adulten Männchen, denn ohne Blutmahlzeit und Copula werden nicht nur keine Geschlechtsprodukte mehr weitergebildet, sondern es stellen sich bei den Keimzellen (speziell bei Spermatocyten, auch bei Spermatiden) in den Testes Degenerationserscheinungen ein. Wir werden auf diesen Punkt noch zurückkommen (S. 131). Bei jüngeren Männchen findet man etwa 10—15 Tage, nachdem Copulation und Blutmahlzeit stattgefunden haben, eine lückenlose, spermatogonische Entwicklungsfolge. Praktisch bedeutet dies, daß man frisch aus Nymphen verwandelte Männchen mit Weibchen copulieren lassen und bald darauf füttern muß, um die für das Studium der Spermatogenese gewünschten Stadien zu bekommen. Dasselbe gilt im Prinzip für Männchen späterer Altersstufen, indem auch bei ihnen die Spermiophoren-Produktion von Copula und Blutmahlzeit abhängig bleibt.

Was nun die Abwicklung der Spermatogenese in den Hodenschläuchen von *O. moubata* anbelangt, so haben wir auf Grund zahlreicher Befunde eine bisher noch unbekannte Tatsache ermitteln können. Die eigentlichen Testes, in denen die Geschlechtszellen alle Stadien ihrer Vermehrung, ihres Wachstums und ihrer Entwicklung durchlaufen, erstrecken sich vom gelblich gefärbten Verbindungsstück bis zu den sackförmigen Vesiculae seminales (Abb. 2 u. Abb. 16). Die Eigentümlichkeit der Gonade besteht nun aber darin, daß die Keimzone, also die Bildungsstätte der Spermatogonien, unmittelbar an die Vesiculae seminales grenzt. Die weitere Entwicklung der Geschlechtsprodukte schreitet also von rostral nach caudal fort, so daß sich die Spermatiden und Spermiophoren

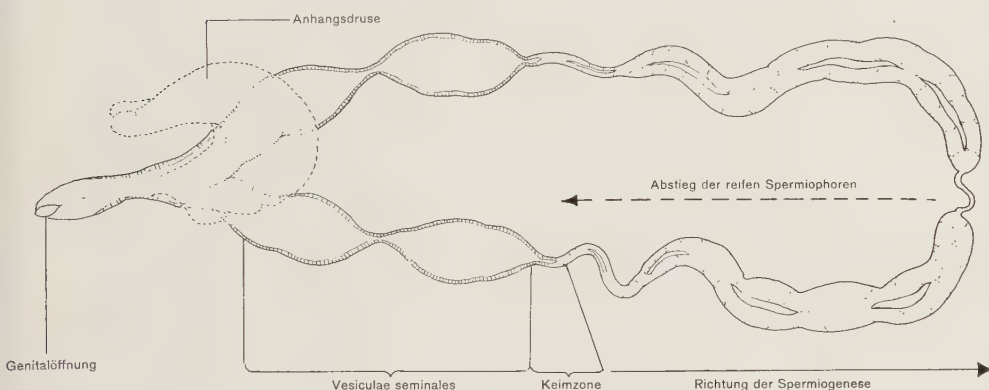


Abb. 2. Schema des männlichen Geschlechtsapparates in vollkommen ausgestrecktem Zustand.



Abb. 3.

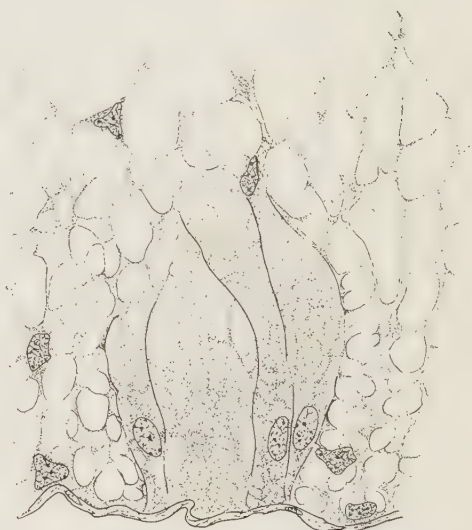


Abb. 4.

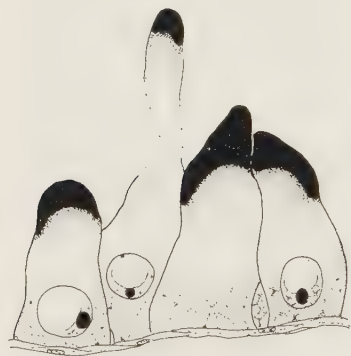


Abb. 5.

Abb. 3. Zellen aus dem Drüsenlappen A.

Abb. 4. Zellen aus dem Drüsenlappen D.

Abb. 5. Zellen aus dem Drüsenlappen E.

phoren in der Nähe des Verbindungsstückes differenzieren. Da die reifen Spermiophoren in den männlichen Genitalwegen unbeweglich sind, müssen sie passiv durch den ganzen Hodenschlauch zurück und schließlich in die Vesiculæ seminales transportiert werden. Dies geschieht durch ein enges, zentrales Lumen, das den Hoden und dessen Keimzone in seiner ganzen Länge durchzieht, wohl mittels Kontraktionen des Hodenschlauches, dessen Basalmembran mit feinen Muskelfasern durchsetzt ist. Die Testes erfüllen somit hier gleichzeitig die Funktion von Vasa deferentia. Die Wand der Vesiculæ seminales besteht aus einer sehr flachen äußeren und einer kubischen bis zylindrischen inneren Epithelschicht, welche außerordentlich dehnungsfähig ist. Die Ver-

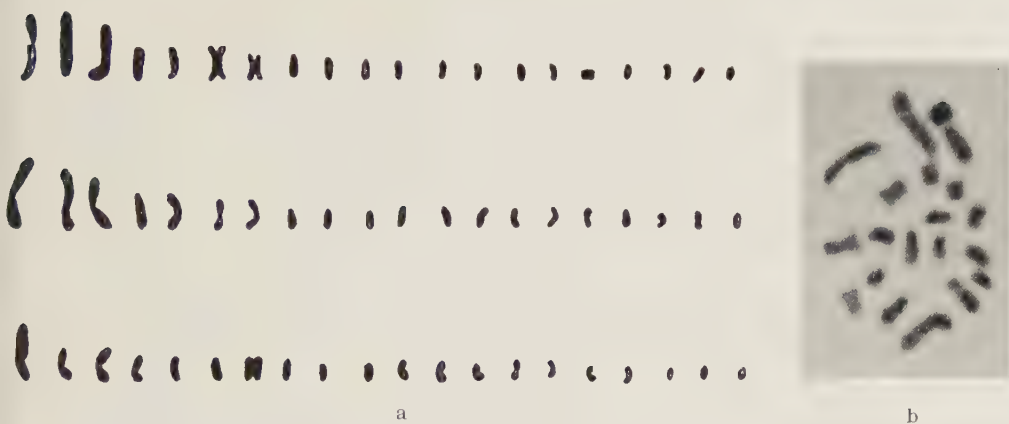


Abb. 6. Diploider Chromosomensatz aus der Metaphase einer Ovogonienteilung. Vergr. 2870 $\times$. a) Pausen nach Mikrophoto; b) Mikrophoto.

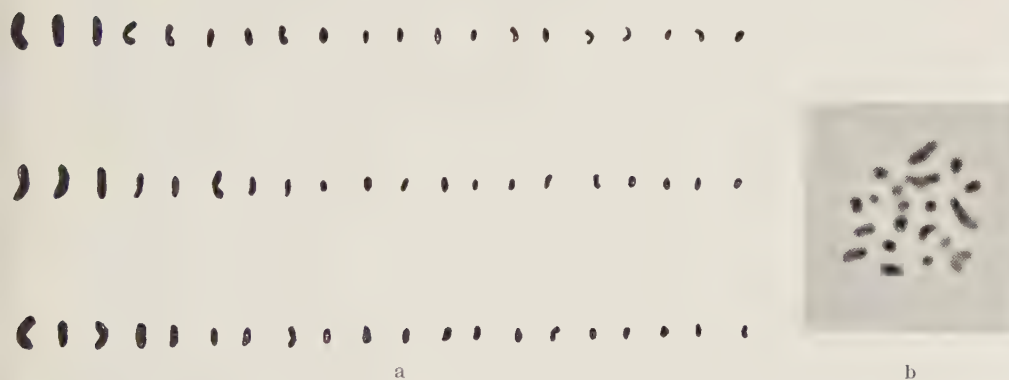


Abb. 7. Diploider Chromosomensatz aus der Metaphase einer Spermatogonienteilung. Vergr. 2870 $\times$. a) Pausen nach Mikrophoto; b) Mikrophoto.

einigung der beiden Vesiculæ seminales, das sog. Atrium genitale (Abb. 2), ist, wie schon erwähnt, die Bildungsstätte des Spermatophoren. Die Spermatogenese setzt sehr früh ein; schon im III. Nymphenstadium enthält der Hoden Spermatogonien in Teilung und sehr junge Spermatocyten I. Die Keimzone ist im adulten Männchen nur auf etwa 1—2 mm beschränkt, während der ganze Hodenschlauch im ausgestreckten Zustand ungefähr 2 cm erreicht. Das erwähnte innere Epithel der Vesiculæ seminales geht unmittelbar in das Keimepithel der Testes über. Die rund um das Hodenlumen sitzenden Spermatogonien sind sehr leicht an ihren relativ großen und runden Kernen zu erkennen. Sie sind auch leicht von dem kleinzelligen, somatischen Zwischengewebe zu unterscheiden, welches später die Spermatocyten-Nester follikelartig umgibt (Abb. 8, 1 und Abb. 16).

Ein Hauptaugenmerk wurde den vereinzelt auftretenden Spermatogonienteilungen geschenkt. In Feulgen-gefärbten Quetschpräparaten konnten wir Form und Zahl der Chromosomen ermitteln. (Abb. 6; vergleiche GEIGY, WAGNER 1957). Die meisten Zählungen ergaben die diploide Chromosomenzahl $2n = 20$. Man unterscheidet deutlich drei relativ große, stäbchenförmige, zuweilen leicht gekrümmte Chromosomen, die ca. $3,1 \mu$ messen, während die 17 anderen kleine, stäbchen- bis kokkenförmige, unter sich etwa gleich große Gebilde darstellen. Es ist sehr schwierig, die Paare oder auch allfällige Heterochromosomen zu erkennen. Ähnliche Chromosomenverhältnisse werden wir später für die Ovogonien erwähnen (s. 141—142).

Aus der letzten spermatogonialen Teilung resultieren die Spermatocyten I. Ordnung. Ihr Kern geht ohne Interkinese sofort in das meiotische Prophase-Stadium über. Die verschiedenen Konjugationsphasen der Chromosomen kann man an Feulgen-gefärbten Quetschpräparaten sehr gut untersuchen. Im Leptonema bilden die Chromatinfäden einen dichten Knäuel, der sich im Zygonema auflockert, worauf man an einzelnen Fäden knötchenartige Verdickungen beobachten kann. Als Pachynema folgt dann die Phase der Verdickung und Verkürzung der Chromosomen, die mehr oder weniger deutliche paarweise Anordnung einnehmen. Schließlich beobachtet man alle Übergänge vom frühen bis zum späten Diakinesestadium. Das letztere findet sich in den Präparaten sehr häufig. Die Chromosomen zeigen nun ihre maximale Kontraktion und bilden Tetraden. Auf dieser Entwicklungsstufe liegen die jungen Spermatocyten I noch nahe der Keimzone und beginnen sich zu Nestern von ca. 16 Stück zu ordnen und mit Follikelhüllen zu umgeben. Im Verlaufe der Chromosomenkonjugation nimmt die Spermatocyte I kaum an Größe zu; trotzdem kann man von einer ersten Wachstumsperiode sprechen (Abb. 8 zwischen 1, 2). Mit dem Verschwinden der Diakinesechromosomen und dem Feulgen-negativ-Werden des Kernes setzt ein außerordentliches Wachstum der Spermatocyte I ein, die damit in ihre zweite Wachstumsperiode eintritt. Da diese Entwicklungsphase der Geschlechtszellen die meiste Zeit beansprucht, enthalten die Hodenschläuche stets Spermatocyten I in verschiedenen Wachstumsstadien. Gegen das Ende dieser Periode erreichen die Zellen eine beträchtliche Größe, und in dem relativ umfangreichen Kern verschwindet das Chromatin fast vollkommen. Ein großer und massiver Nucleolus erscheint jetzt im Zentrum des Kernraumes. Sehr auffallend ist die zunehmende Verdickung der Zellwände, deren gestreifte Struktur im histologischen Schnitt gut sichtbar wird. Dies veranlaßte NORDENSKIOELD (1909) dazu, das Cytoplasma der Spermatocyte I in ein Ekto- und Endo-

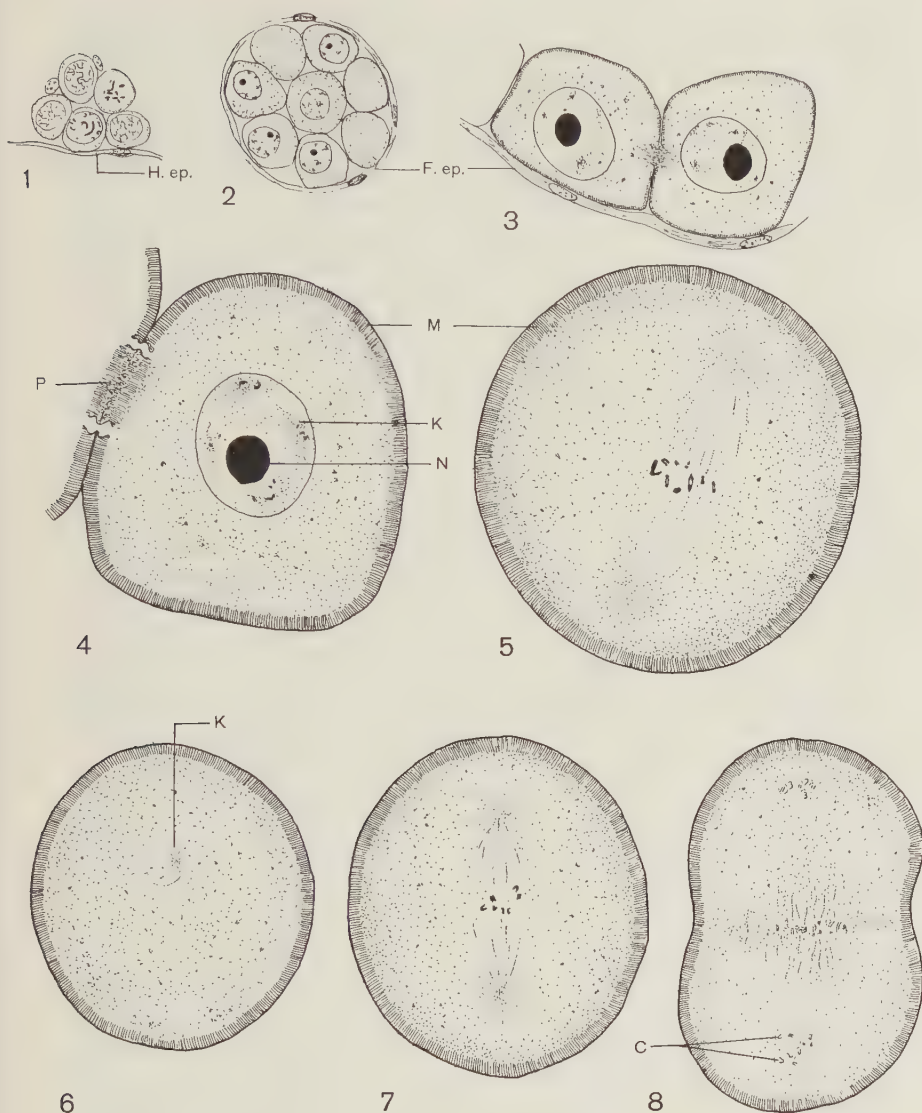


Abb. 8 (1—8). Spermatogenese. 1: Spermatogonien in Teilung; 2: Nest mit jungen Spermatocyten I; 3: zwei Spermatocyten I zu Beginn der 2. Wachstumsperiode; 4: ältere Spermatocyte I kurz vor der Teilung; 5: Spermatocyte I, Metaphase der 1. Reifeteilung; 6: Spermatocyte II, Ruhekern; 7: Spermatocyte II, Metaphase der 2. Reifeteilung; 8: Spermatocyte II, Beginn der Teilung in zwei Tochterzellen, in der Mitte Ausbildung der Zellwand, Chromosomen der Anaphase in sphärischen Plasmafeldern. — C: Chromosomen; F.ep.: Follikelepithel; H.ep.: Hodenepithel; K: Kern; M: Zellmembran; N: Nucleolus; P: Plasmabrücke (Fix. Flemming, Färbg. Haem. Heidh.). Vergr. 750 $\times$.

plasma einzuteilen. Doch beweisen schon die noch zu erwähnenden interzellulären Unterbrechungen mit Plasmabrücken, daß es sich um eine Zellmembran handeln muß. CASTEEL (1917) hat drei Arten von cytoplasmatischen Einschlüssen in einer ausgewachsenen Spermatocyte I festgestellt, die er als Mitochondrien, als extranukleäre und vesiculäre Körper bezeichnet hat. Schon am Anfang ihrer Wachstumsperiode bilden die Spermatocyten I in ihren verdickten Wänden die bereits erwähnten plasmatischen Brücken aus (Abb. 8, 3, 4), die nach OPPERMANN den Stoffwechsel unter den einzelnen Zellen des gleichen Follikels erleichtern sollen. Infolge außergewöhnlicher Zunahme ihres Volumens bilden die Spermatocyten I schließlich die größten Zellen der Gonade und bekommen mit ihrem chromatinarmen, bläschenartigen Kern fast das Aussehen einer Ovocyte. Nach Erreichen der maximalen Größe rundet sich die Spermatocyte I ab, und ihr Kern bereitet sich zur ersten Reifeteilung vor. Der Nucleolus vakuolisiert sich und verschwindet, die Chromosomentetraden erfahren eine deutliche Rückbildung, und der Kern wird wieder Feulgen-positiv. Schließlich erscheinen in der Äquatorialebene 10 Chromosomenpaare, die das Metaphasestadium einleiten (Abb. 8, 5). Während 7 Chromosomenpaare in Tetraden angeordnet sind, weisen die drei anderen großen meistens eine gekrümmte, an beiden Enden stark verdickte, stäbchenartige Form auf. Es ergibt sich somit für die haploide Phase $n = 10$. Es ist uns, wie schon erwähnt, nicht gelungen, Heterochromosomen festzustellen, obwohl zahlreiche Mitosen ausgewertet worden sind. Es scheint also, daß bei den *Ornithodoros*-Arten übereinstimmend mit den Untersuchungen von I. SOKOLOW (1954) tatsächlich keine Heterochromosomen vorhanden sind, während bei der Familie der Ixodidae von demselben Autor bei 13 Arten Geschlechtschromosomen erkannt wurden.

Die erste Reifeteilung der Spermatocyte I wird sehr schnell durchlaufen. Man findet sie deshalb auch sehr selten. Die Geschlechtszellen eines Follikels entwickeln sich synchron und befinden sich deshalb immer in derselben Phase. Aus der ersten Reifeteilung resultiert die Spermatocyte II, die schwer von den jungen Spermatiden zu unterscheiden ist. An unserem Objekt konnte sie erst nach längerem Suchen gefunden werden, vor allem auf Grund von Auszählungen, indem ein Nest mit Spermatocyten II doppelt soviel, d. h. 30—32 Zellen, enthält. Die Spermatiden-Nester enthalten dann 60—64 Zellen. Die Spermatocyten II (Abb. 8, 6, 7) sind etwa halb so groß wie die Spermatocyten I, ihre Zellwand zeigt die gleiche gestreifte Verdickung. Ihr Kern ist relativ klein, besitzt eine sehr zarte Membran und enthält keinen Nucleolus. Im Gegensatz zu OPPERMANN konnten wir kein besonderes Wachstum

der Spermatocyte II feststellen, die Spermatocyten I bestätigten sich somit als die größten Zellen.

Die Metaphasestadien der 2. Reifeteilung sind noch seltener vortreten als diejenigen der 1. (Abb. 8, 7). Die Chromosomen sind sichtlich kleiner, und ihre haploide Zahl beträgt ebenfalls 10. In einer späteren Phase zeigen die Chromosomen ein besonderes Verhalten. Das Telophasestadium ist nämlich nicht durch die übliche Wiederherstellung der Kernmembran und die Auflösung der Chromosomengestalt gekennzeichnet, sondern die einzelnen Chromosomen behalten vorläufig ihre Form und umgeben sich mit kleinen, sphärischen Feldern strukturlosen Plasmas. Dieser Chromosomenzustand bleibt auch noch in den jungen Spermatiden einige Zeit erhalten (Abb. 9, 1, 2, 3). Zwischen den sich abrundenden Tochterzellen wird, wie in Abb. 8, 8 dargestellt, die charakteristische gestreifte Zellwand aufgebaut.

Bevor wir zur Beschreibung der Spermioghistogenese übergehen, muß noch etwas einläßlicher auf die schon kurz erwähnte Zelldegeneration in den Testes eingegangen werden. Schon OPPERMANN (1935) hat als erster bei *Argas columbarum* auf diesen Umstand hingewiesen und ihn folgendermaßen erklärt: «Das starke Wachstum der Spermatocyten wird dadurch ermöglicht, daß der Inhalt ganzer Spermatocytennester zugunsten der benachbarten degeneriert. Und zwar gehen hier die Spermatocyten I, die bereits die Tetradenbildung und einen Teil des Wachstums vollendet haben, als Nährzellen zugrunde.» Die Degenerationserscheinungen der männlichen Geschlechtszellen sind bei *O. moubata* viel ausgeprägter als bei *Argas columbarum*. Neben der einfachen Degeneration von Spermatocyten I durch Kernpyknose, welche die Zellen in allen Altersstufen erfassen kann, gehen auch solche Geschlechtszellen zugrunde, die sich in einem fortgeschrittenen Entwicklungsstadium befinden. Es wurden Nester beobachtet, wo die Spermatocyte I ein abnormal starkes Wachstum aufweist; in ihrem Cytoplasma treten Vakuolen auf, der Nucleolus verschwindet und der Kern wird chromatinarm. Die Zellen solcher Nester verschmelzen miteinander und zerfallen schließlich überhaupt. Dies kommt auch bei regelmäßiger Copula und Fütterung vor. Anders liegen die Verhältnisse bei adulten Männchen, deren Spermatogenese normal verläuft, sobald man sie copulieren läßt und füttert (s. S. 125). Wird diese Regel nicht eingehalten, so kommt es zu einer besonderen Art von Degeneration: Hat die Spermatocyte I eine gewisse Größe erreicht, so wird scheinbar die erste Reifeteilung normal angebahnt. Es bildet sich eine Spindel, in deren Äquator die Chromosomentetraden eintreten und sich teilen. Die Spermatocyte dehnt sich dabei sehr stark in die Länge, doch unterbleibt jetzt ihre Trennung in

zwei Tochterzellen (vielleicht infolge Störung des ATP-Mechanismus, HOFFMANN und BERLING 1954), währenddem sich die Chromosomenansammlungen nach erfolgter Anaphase an einem oder an beiden Polen gleich weiterteilen können. So entstehen unförmige Gebilde mit multiplen Mitosen, die sich nicht oder höchstens unvollständig zellularisieren, währenddem sich die Kerne noch relativ normal zu konstituieren vermögen. Solche Gebilde degenerieren dann schließlich, wobei sich zuweilen noch Anläufe zu Spermioghistogenese zeigen.

Wir kehren nun wieder zurück zum normalen Weiterverlauf der Spermatogenese. Bevor sich die Spermatide zur Spermioghistogenese anschickt, verschmelzen allmählich in ihrem Zentrum die früher erwähnten Plasmasphären der Chromosomen zu größeren Bläschen, wodurch Bilder entstehen, die Mehrkernigkeit vortäuschen (Abb. 9, 1, 2, 3) ¹. Die Chromosomen verschwinden schließlich, und es entsteht ein einheitlicher Kern mit Nucleolus (Abb. 9, 4, 5). Flemming-Fixierung erlaubt eine gute Unterscheidung dieser Feinstruktur. Mit Carnoy dagegen erhält man Verklumpungen des Kerninhaltes, was zweifellos auch die Interpretationen von WARREN (1933) ungünstig beeinflusst hat. Sobald das Kernbläschen gebildet ist, erscheinen in der Nachbarschaft der noch homogen verdickten Zellwand intensiv färbare Körnchen, die CASTEEL (1917) als Mitochondrien identifiziert hat. Diese Körnchen vereinigen sich zunächst unterhalb des Kernes zu einem feinen Halbmond, der sich, bei der nun einsetzenden Ovalisierung der Spermatide, ausbreitet und schließlich fast den ganzen unteren Teil der Zelle erfüllt (Abb. 9, 5, 6, 7). Anschließend verlagert sich das ganze Mitochondrien-Material nach dem oberen Pol, wo es den Kern umgibt (Abb. 9, 8, 9). Dieser hat sich insofern gewandelt, als sich das zunächst kaum angedeutete Chromatin am Nucleolus verdichtete und schließlich zu einem kompakteren konischen Gebilde wurde, an dessen einem Ende sich der mittlerweile bereits verkleinerte Nucleolus einfügt. Die Verdickung der Zellmembran beschränkt sich nun immer mehr auf den Zellaequator, d. h. sie zieht sich völlig vom Kernpol und größtenteils vom Mitochondrienpol zurück (Abb. 9, 7—12). Bei der nunmehr erfolgenden Reduktion des Zellvolumens drängt sich die Membranverdickung noch stärker im unteren Zellbereich zusammen, und ihre Struktur wird faserig (Abb. 9, 10—12). Schließlich bildet sie gewissermaßen den Boden der Spermatide und stülpt sich als solcher ins Zellinnere vor, etwa wie der Glasboden einer Flasche. Der Unterschied bei diesem Vergleich besteht allerdings darin, daß der eingestülpte Flaschenboden

¹ SOKOLOW (1957) schildert bei *Ornithodoros papillipes* ähnliche Verhältnisse in den Spermatocyten II.

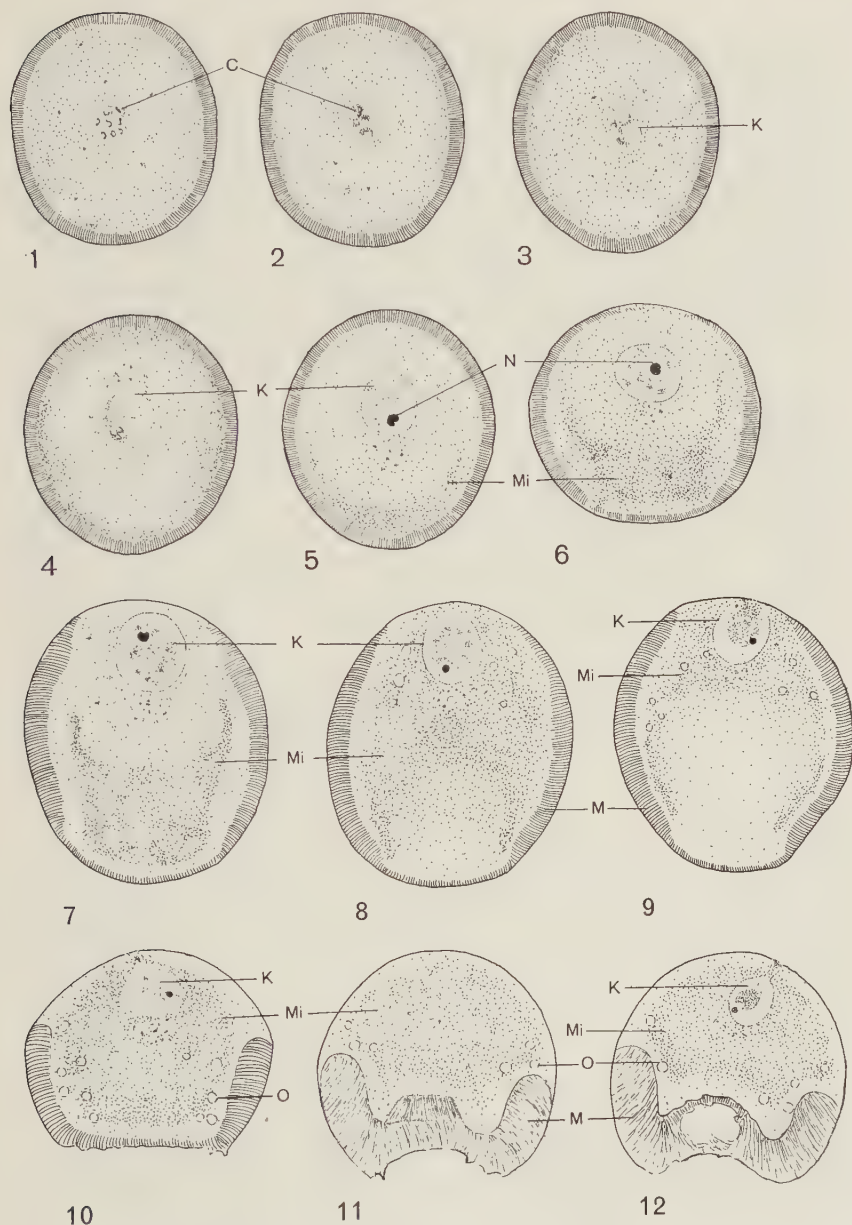


Abb. 9 (1—12). Spermiogenese. 1: junge Spermatide mit Chromosomen in sphärischen Plasmafeldern; 2—4: Auflösung der Chromosomen und gleichzeitige Verschmelzung der einzelnen Plasmafelder zu einem Kern; 5: Auftreten der Mitochondrien in der Spermatide; 6: Konzentration der Mitochondrien in der Spermatide; 7: Beginn der Mitochondrien-Verschiebung und Verdickung der Zellwand um den Zelläquator; 8 und 9: Konzentration der Mitochondrien um den Kernpol und Verdichtung des Chromatins im Kern zu einem kugeligen Gebilde; 10: Spermatide kurz vor der Einstülpung; 11 und 12: zwei aufeinanderfolgende Schnittbilder der gleichen Spermatide, Invagination der nun stark verdickten Membran in das Zellinnere. — Bezeichnung siehe Abb. 8, Mi: Mitochondrien; O: Öltropfen (Fix. Flemming, Färbg. Haem. Heidh.). Vergr. 750×.

im Inneren noch einmal einen Hohlraum bildet (Abb. 10, 1), der sich zu einer Blase mit faseriger Wandstruktur erweitert, währenddem die Flächen der Einstülpung untereinander verschmelzen (Abb. 10, 2). An der dem Kern zunächst liegenden Stelle der Blase entsteht dann eine Öffnung, die von einer charakteristischen sechseckigen Verdickung umgeben ist (Abb. 10, 3—7). Dieser Binnenraum im Inneren der Spermatide wächst nun sukzessive zum mehrfach gewundenen Schlauch oder Tubus (Abb. 10, 9—11) aus und zieht dabei den Zelleib etwas in die Länge. An seinem nun kolbenartig verbreiterten vorderen Pol sitzt das Sechseck und über demselben, haubenförmig, die Mitochondrienschicht mit dem Kern². Im Laufe der Tubusentwicklung wird der Kern wesentlich kompakter und nimmt die Gestalt eines kommaförmigen Spermakopfes an, eines Gebildes also, dem er tatsächlich auch entsprechen dürfte. Jedenfalls handelt es sich um konzentrierte männliche Kernsubstanz mit Feulgen-positiver Reaktion, deren seltsames Schicksal in der zum Spermiophoren auswachsenden Spermatide nun zu beschreiben ist. Das erwähnte Sechseck bildet gewissermaßen den Eingang zum Tubus, besonders wenn es sich nun trichterartig vertieft und die Mitochondrienmasse einsaugt (Abb. 10, 7,

² In diesen Stadien ist die Spermatide außerordentlich empfindlich. Die äußeren Zellwände sind durch das Streckungswachstum des Tubus und wahrscheinlich durch Aufnahme von Wasser stark gespannt und zerplatzen leicht bei Anwendung schwacher, mechanischer oder chemischer Reize. Der sogenannte «fingerförmige Prozeß», an dessen Basis die Mitochondrien und das Spermium sitzen (Abb. 10, 7, 8), wurde sowohl von NORDENSKIOELD (1920) als auch von CASTEEL (1917) beschrieben und von uns ebenfalls etwa in den Schnittpräparaten beobachtet. Wir konnten aber beweisen, daß es sich um ein Fixierungsartefakt handelt. Um falsche Schlüsse auf Grund solcher Artefakte auszuschalten, mußten diese Entwicklungsstadien der Spermatide im Dunkelfeld- und Phasenkontrastmikroskop untersucht werden (Abb. 10, 9—11 und Abb. 11, 1—7).

Abb. 10 (1—11). Spermioghistogenese, Tubusbildung. 1: Längsschnitt durch die Spermatide kurz nach der Invagination; 2 und 3: gleiche Entwicklungsstadien einer Spermatide nach vollendeter Einstülpung und Ausbildung des Binnenraumes; 2: Medianschnitt; 3: Anschnitt des oberen, Kern und Mitochondrien enthaltenden Pols der Spermatide. Unterhalb des Kernes die 6eckige, ursprüngliche Einstülpungsstelle; 4: Anschnitt der Spermatide, die faserige Struktur der Binnenraumwände zeigend. Die ursprüngliche Einstülpungsstelle wird zur 6eckigen Platte. Die obere Kappe mit Kern und Mitochondrien wurde in diesem Schnitt nicht getroffen; 5, 6, 7: Längsschnitt durch den oberen Teil der Spermatide, während der Umformung des Binnenraumes zum Tubus. Umwandlung der 6eckigen Platte zu einem in das Tubusinnere hineinragenden Trichter. Auswachsen des Kernes bzw. Chromatins zu einem kommaförmigen Spermakopf; 8: Längsschnitt durch den vorderen Tubusteil, während beginnender Invagination, entsprechendes Entwicklungsstadium in 11; 9, 10, 11 entsprechen den Entwicklungsstadien 5, 6, 7 und 8. Phasenkontrast, Nativ. — H: äußere Hülle; K: Kern bzw. Spermium; In: 6eckige Platte oder ursprüngliche Invaginationsstelle; Mi: Mitochondrien; T: Tubus (Fix. und Färbg. bei 1—8 wie Abb. 9). Vergr. bei 1—8 750×.

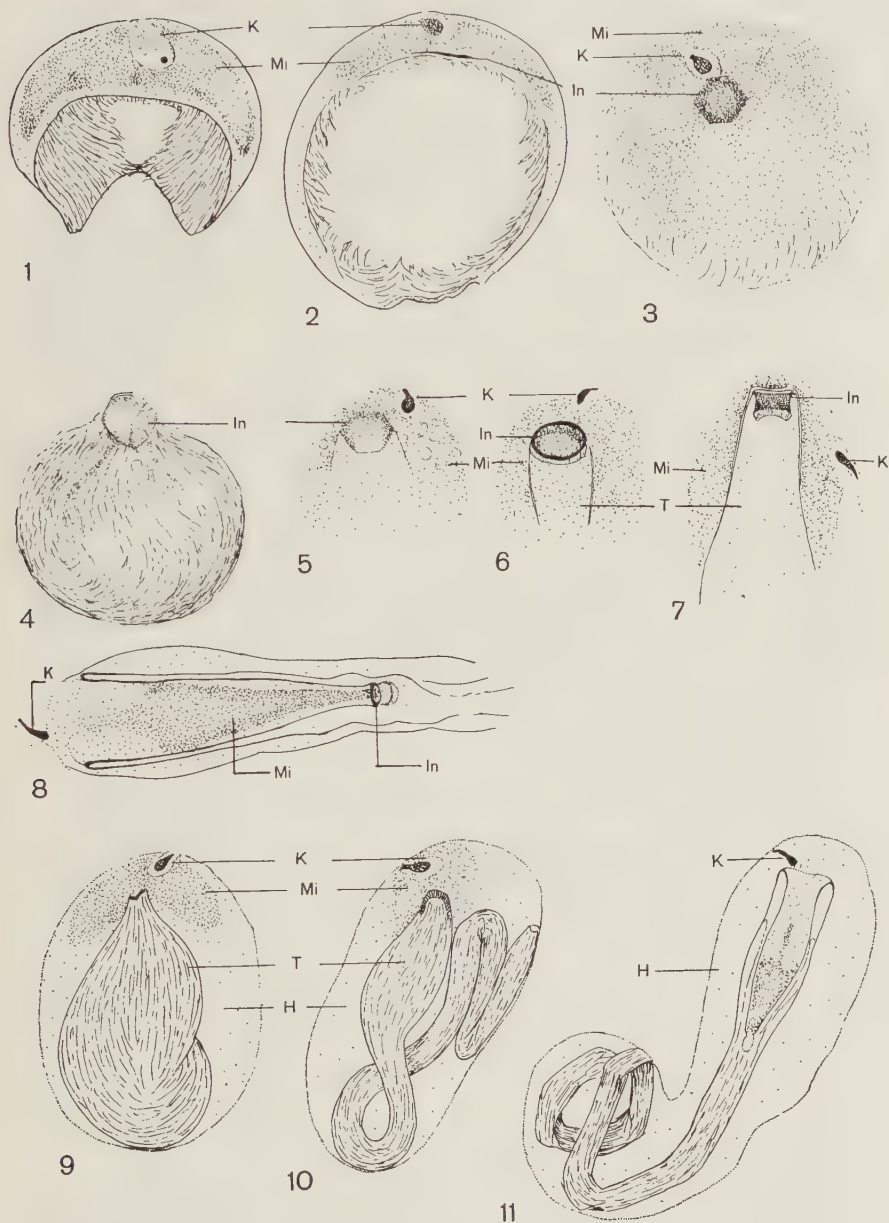


Abb. 10.

8). Der Trichter schließt sich allerdings gegen das Lumen des Tubus wieder mit einem Plasmapropfen ab. Sobald aber dieser seine endgültige Länge erreicht hat, schreitet die Invagination des Trichters handschuhfingerartig fort, wobei die Mitochondrienmasse ins Innere mitgezogen wird, während der Spermakopf in der äußeren Hülle zurückbleibt. Sein Standort ist allerdings nicht endgültig, denn er bewegt sich, mit fortlaufender Einstülpung, dem Tubus äußerlich entlang und kommt schließlich an dessen Hinterende zu liegen (Abb. 10, 11 und Abb. 11, 1, 2). Durch dieses Invaginieren wird logischerweise die Länge des Tubus etwa auf die Hälfte reduziert.

Aus der Spermatiden-Entwicklung gehen somit copulationsreife, aber noch unbewegliche Spermiophoren (vgl. TUZET u. MILLOT) hervor, die sich in den Vesiculae seminales sammeln, um später, während der Copulation, im Atrium genitale zu mehreren Hunderten in den Spermatophoren eingepackt zu werden. Jeder Spermiophor besteht somit, um noch einmal zusammenzufassen, aus einem eingestülpten Tubus, der im Dunkelfeld starke Lichtbrechung zeigt. Er sitzt in einer ovalen Schutzhülle wie in einem Säckchen, welches auch den kommaförmigen Spermakopf (in der Folge zuweilen auch Spermium genannt) enthält. Diese Hülle ist außerordentlich zart und wahrscheinlich sehr wasserreich. Im Schnitt färbt sie sich kaum an und zeigt, auch im Dunkelfeld, keinerlei Lichtbrechung.

b) Anhangdrüse und Spermatophorenbildung.

Die histologischen Schnitte durch die Anhangdrüse bestätigen uns, daß sie ein einheitliches Gebilde darstellt. Die bauchigen, blind endenden Drüsenschläuche münden alle zusammen mit den Vesiculae seminales in ein gemeinsames weites Lumen, das sog. Atrium genitale, dessen Epithel nach innen eine ungleichmäßig dicke Chitinschicht ausscheidet. Der ganze Drüsenkörper wird außen von einer bindegewebigen, mit kleinen Kernen versehenen Membran überzogen. Wie es schon BONNET (1907) für *Hyalomma* und ROBINSON & DAVIDSON (1913—1914) für *Argas persicus* beschrieben haben, unterscheidet man auch bei *O. moubata* drei verschiedene Typen sezernierender Epithelien.

Der dorsale Drüsenlappen A, ferner die beiden paarigen Divertikel B, B' und C, C', weisen ein einheitliches Sekretionsepithel auf. Es besteht aus schlanken, zylindrischen Zellen, welche höchstens in zwei Schichten angeordnet sind (Abb. 3, S. 126). Die Kerne liegen basal und enthalten ein körnig verteiltes Chromatin. Die Sekretstoffe sind als verschieden große Tropfen in der Zelle sichtbar. Die

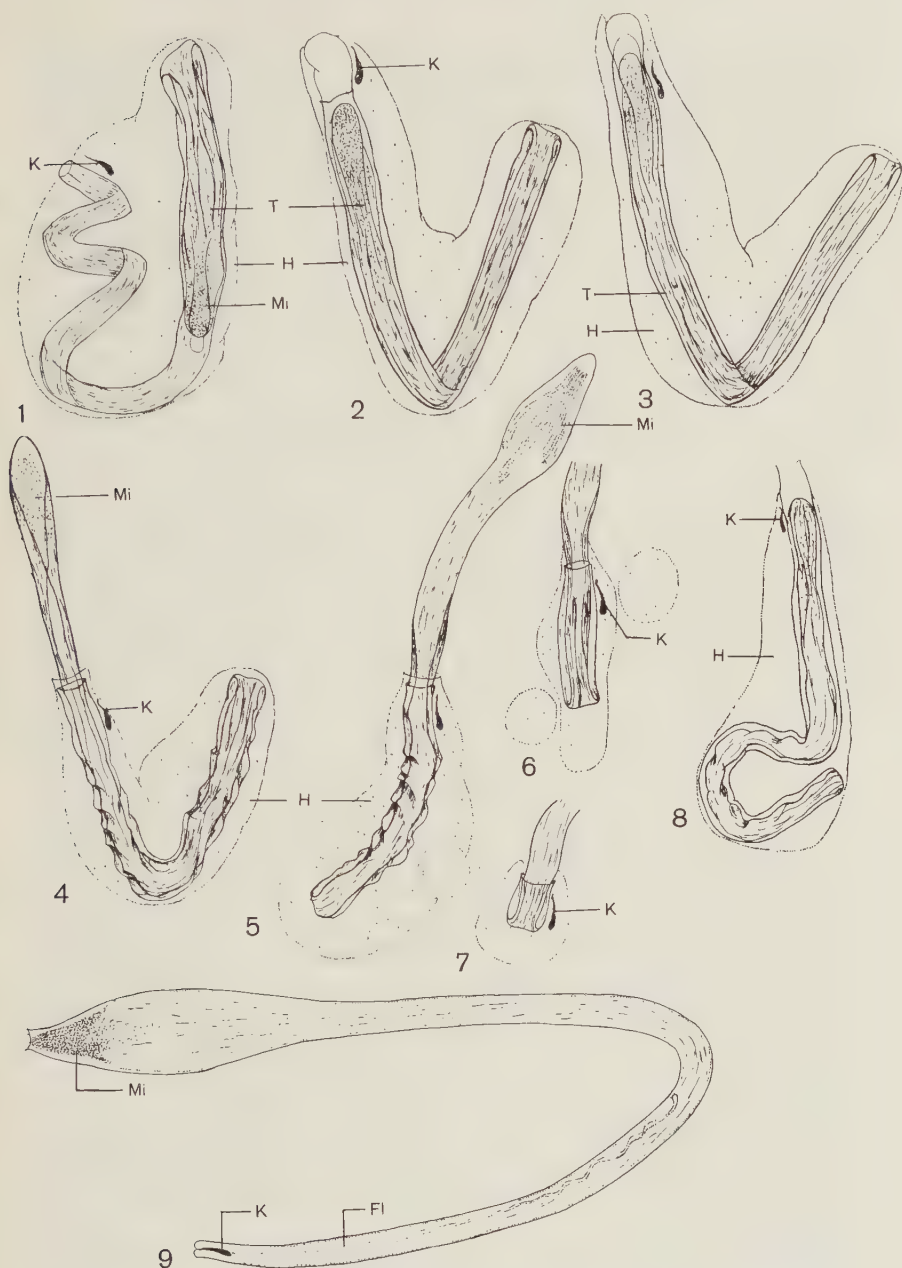


Abb. 11 (1—9). Ein- und Ausstülpung des Spermiophoren. 1, 2 und 8: Invagination des Tubus bis zur Bildung des copulareifen Spermiophoren; 1 und 2: Phasenkontrast, Nativ; 8: Copulareifer Spermiophor aus den Vesiculae seminales (Ausstrich, Fix. Osmiumsäuredämpfe, Färbg. Haem. Heidh.); 3, 7 und 9: Verwandlung des Spermiophoren in den weiblichen Geschlechtsgängen; 3—7: Umkrempelung und Ausstülpung des Spermiophoren, Phasenkontrast, Nativ. Bei 6 und 7 nur das Spermiophorenende dargestellt; 9: Ausgestülpter Spermiophor aus dem Ovidukt eines Weibchens (Ausstrich, Fix. Osmiumsäuredämpfe, Färbg. Haem. Heidh.); Bezeichnungen siehe Abb. 10; Fl: Filament; Vergr. ca. 450×.

Tröpfchen verschmelzen im Lumen des Drüsenlappens zu einer homogenen Sekretmasse. Ein Zugrundegehen der Zelle und des Kernes konnte während und nach der Sekretion nie beobachtet werden. Somit haben wir es hier mit einem apokrinen Drüsentypus zu tun. Der paarige Drüsenlappen D,D' weist ein schwammiges Gewebe auf, in welchem die Kerne unregelmäßig verteilt sind (Abb. 4). Die Sekretionstätigkeit ist nur auf bestimmte, gruppenweise gelagerte, kolbenförmige Elemente beschränkt, deren Kerne basal liegen. Die Sekretprodukte entstehen in Form sehr feiner, homogener Körnchen und verlassen die Zelle an ihrem freien Ende. Sie vereinigen sich im Drüsenlumen zu einer gleichmäßigen Schleimschicht. Die Sekretion ist hier auch apokrin. Das Gewebe der paarigen Drüse E,E' (Abb. 5) zeigt deutliche Unterschiede. Hier sind die Zellen kubisch und ihre Kerne weisen eine zentral gelegene Vakuole auf, welcher ein großer Nucleolus (zuweilen ein zweiter, viel kleinerer) ansitzt. Der cytologische Aspekt des Kernes deutet auf seine Beteiligung an der Sekretion hin. Die Sekretstoffe sind für diesen Drüsendifertikel ebenfalls typisch. Sie bilden sich als sehr feine Granula an der Basis der Zelle und werden dann in ihrer Kuppe gespeichert. Dort ist ihre Konzentration offenbar sehr stark, wie man aus der intensiven Färbbarkeit der Masse schließen möchte. Ihre Ausstoßung in das Lumen erfolgt durch Abschnürung und Abrundung der ganzen Zellkuppe. Die Sekretionsart ist somit merokrin. Die stark zusammenhängenden ventralen Drüsendifertikel F, G,G' und H,H' zeigen im histologischen Schnitt mehr oder weniger einheitliches Epithel. Die größte sekretorische Tätigkeit geht offenbar im unpaaren Lappen F vor sich, dessen Zellen und Sekretstoffe am meisten denjenigen der Drüsenlappen A, B und C entsprechen. Die paarigen Lobuli G,G' und H,H' bestehen aus einem Drüsenepithel, das einen etwas schwammigen Charakter aufweist, ähnlich wie D, jedoch ohne die dort geschilderte gruppenweise Aufteilung. Die Bildung des Sekrets in Form von Granula ist allerdings nicht so stark ausgeprägt wie in anderen Drüsenlappen. Die Sekretion ist hier apokrin. Entsprechend den Unterschieden im Drüsenbau scheinen auch die Sekretstoffe voneinander verschieden zu sein. Versuche zur Bestimmung der chemischen Zusammensetzung wurden nicht unternommen, doch ließen die histologischen Färbemethoden immer die Anwesenheit von Eiweiß erkennen.

Die Hauptfunktion der sekretorischen Tätigkeit der Anhangdrüse besteht in der Bildung des ziemlich kompliziert gebauten Spermatophoren. Seine Entstehung vollzieht sich erst während der Copulation im Atrium genitale, wenn von beiden Seiten die Spermiophoren aus den Vesiculae seminales hineingepreßt und

nun sofort mit den Drüsensekreten umgeben werden. Es ist nicht leicht zu verstehen, wie in diesem Augenblick die ephemere «Struktur» des Spermatophors zustande kommt. Jedenfalls besteht er im Inneren aus zwei mit je einigen hundert Spermiophoren erfüllten Bläschen, die vielleicht auf die Doppel-Injektion aus den Vesiculae seminales zurückzuführen sind. Diese beiden Spermiophorenballen sind wiederum in ein Gallertsäckchen eingepackt, welches gewissermaßen die äußere Wand des Spermatophors darstellt. Auf das Funktionieren dieses Systems beim Copulationsakt werden wir zurückkommen, sobald der Bau der weiblichen Genitalorgane besprochen ist.

III. Weiblicher Geschlechtsapparat.

1. Morphologie.

Über die Morphologie des weiblichen Genitalsystems der Ixodidae und Argasidae haben die Mehrzahl der im II. Kapitel angeführten Autoren berichtet, wobei ROBINSON & DAVIDSON (1913 bis 1914) genauere Untersuchungen an *Argas persicus* durchgeführt haben. Eine genaue Beschreibung des Genitalapparates von *O. moubata* verdanken wir außerdem W. BURGDOFFER (1951). Er hat das im abdominalen Körperabschnitt gelegene girlandenförmige Ovar, die beiden in den zweihörnigen Uterus absteigenden Ovidukte, die Verjüngung des Uterus zur Vagina mit ihren beiden akzessorischen Drüsen sowie die Ausmündung des unpaaren, weiblichen Geschlechtsganges in der breiten Genitalöffnung hinter dem Capitulum beschrieben und abgebildet. Wir können diese anatomischen Verhältnisse in allen Teilen bestätigen und möchten nur noch besonders hinweisen auf die blasigen Erweiterungen in der unteren Hälfte der Eileiter, die wir Ovidukt-Ampullen nennen. Wie wir noch sehen werden, kommt ihnen im Zusammenhang mit der Copulation und Befruchtung eine besondere Bedeutung zu (siehe Abb. 15). Weiterhin ist zu beachten, daß auf der Oberfläche des Ovars die reifsten Eizellen caudalwärts, also am hintersten Rand der Girlande gelagert sind, die noch wenig entwickelten Keimzellen (Ovogonien und Ovocyten I) am Vorderrand. Daraus geht schon hervor, daß die Ovarialwand die Keimzellen schubweise von vorne nach hinten reifen läßt.

Schon bei weiblichen Nymphen des III. Stadiums konnten wir eine Differenzierung des Genitalapparates in die eben erwähnten Abschnitte feststellen. In den drei darauffolgenden Nymphen-Stationen prägen sich Form und Struktur immer besser aus; speziell wachsen die kurzen und dünnen Ovidukte und die sehr kleine Uterusanlage weiter heran.

2. Ovogenese und Chromosomenverhältnisse.

Über die Ovogenese der Ixodidae und Argasidae findet man wenig Angaben in der Literatur. Die meisten Autoren beschränkten sich auf die Anatomie der weiblichen Geschlechtsorgane, und nur wenige unter ihnen untersuchten die Histologie des Genitalsystems. Eine der ausführlichsten Arbeiten in dieser Richtung stammt von NORDENSKIOELD (1910), welcher die Ovogenese von *Ixodes reduvius* behandelte. Die meiotischen Vorgänge und auch die Chromosomenverhältnisse werden von ihm nicht geschildert. Der Autor befaßt sich in der Hauptsache mit einer histologischen Beschreibung des Ovars und seiner Entstehung. Es bildet sich in der Larve als paariger Zellhaufen, bestehend aus Urgeschlechtszellen und den kleineren, späteren Follikelzellen. Die beiden Massen verschmelzen sodann miteinander zu einem hufeisenförmigen Organ. Was die nun einsetzende Ovogenese anbetrifft, so beschränkt sich NORDENSKIOELD auf die Beschreibung gewisser Kernveränderungen im heranreifenden Ei. J. WAGNER (1892) erwähnt bei *Ixodes calcaratus* die Ausstoßung von Richtungskörpern, die erst nach der Eiablage erfolgen soll. ROBINSON & DAVIDSON (1913—1914) beschränkten sich auf eine kurze Schilderung der Histologie des weiblichen Genitalapparates von *Argas persicus*. Während des Wachstums heben die Eier die Ovarialmembran ab, ragen nach außen und bilden die Follikel. In der Ovarialwand werden drüsige Zellen unterschieden, von deren Sekreten vermutet wird, daß sie die Eischale aufbauen. Spermatozoen (von Spermiophoren ist dort noch nicht die Rede) haben diese Autoren nur vereinzelt in den Ovidukten angetroffen, die Hauptmenge befand sich immer im Uterus. Es bleibt ihnen rätselhaft, wie die Spermatozoen in die stark beschaltten mikropylenfreien Eier eindringen können. LEES & BEAMENT (1948) erwähnten in ihrer Arbeit über das Génésche Organ von *O. moubata* ebenfalls kurz den Bau des Genitalsystems. Sie haben bereits erkannt, daß auf der hinteren Fläche des Ovars die am weitesten entwickelten Eier und reife Follikel anzutreffen sind. Die vordere Wand bezeichnen sie allerdings als «steril», d. h. keimzellenfrei, worin wir mit ihnen nicht einig gehen können (vgl. S. 139). Nach ihnen besteht der Eifollikel nur aus einem Stiel und der membranösen Tunica propria, welche das ganze Ei umgibt. Die Schale wird von der Eizelle selbst gebildet und weist keine Mikropyle auf, ganz im Gegensatz zur Chorion- und Mikropylenbildung bei den Insekten, die von den Follikelzellen ausgeht. Die beiden Forscher haben nie das Eindringen eines Spermiums in das Ei beobachtet und bezweifeln sehr, daß dies nach der Bildung der Schale noch möglich ist.

Eigene Untersuchungen. Die Orogenese setzt schon im III. Nymphenstadium ein, mit der Entstehung der ersten Ovocyten I aus den Ovogonien, wobei zahlreiche Mitosen beobachtet werden. Die so entstandenen Ovocyten verharren in einem Ruhezustand, sobald sie eine gewisse Größe erreicht haben. Trotz regelmäßiger Fütterung zeigen sich im Ovar keinerlei Anzeichen von Dotterbildung. Erst wenn die Zecke adult geworden ist und dann erstmals copuliert und eine weitere Blutmahlzeit aufgenommen hat, wird die Heranreifung der Eier zu Ende geführt, indem jetzt die Ovocyten I beträchtlich anwachsen und ihren Dotter ausbilden. Dieser Beobachtung wird später weitere Bedeutung zukommen, wenn wir das Schicksal der Spermiphoren im Weibchen schildern werden (S. 151—152). Währenddem das Männchen beim Erreichen des Adultzustandes in den Vesiculae seminales reife Spermiphoren enthält, besitzt somit das Weibchen in jenem Stadium noch keine reifen Eier. Das Ovar von Weibchen, die sich frisch aus Nymphen gehäutet haben, ist ein zartes, girlandenförmiges Gebilde mit kleinen, nach außen ausgestülpten Ovocyten I. Läßt man das junge Tier copulieren und füttert das Weibchen gleich danach, so erfolgt nicht vor 10—14 Tagen die erste Eiablage. Nach einem Intervall von ca. 2—3 Monaten kann das Weibchen wieder gefüttert werden und erneut zur Eiablage schreiten, wobei eine Wiederholung der Copula nicht unbedingt notwendig ist. Nach ROBINSON (1942) kann ein Weibchen nach einer einzigen Begattung bis zu dreimal Eier ablegen, jedoch ist vor jeder Eiablage eine Blutmahlzeit unerläßlich. Der günstigste Zeitpunkt zum Studium der Orogenese, bei dem man die Geschlechtszellen fast in allen Entwicklungsstadien vorfindet, liegt ca. 10—14 Tage nach Copula und Fütterung, d. h. das Tier muß sich gerade vor oder am Anfang der Eiablage befinden. Die meisten Untersuchungen haben wir an nach Feulgen gefärbten Längsschnitten des Ovars durchgeführt. Wir haben beobachtet, daß Ovogonien vornehmlich auf der vorderen, dem Uterus zugekehrten Seite, und zwar auf der ganzen Länge des Ovars, liegen und sich von da aus weiter entwickeln. Diese Region hat somit beinahe die Wertigkeit einer Keimzone. Jedoch ist dies nur bedingt richtig, indem wir Ovogonien zuweilen auch an anderen Stellen der Ovarialoberfläche feststellten und bemerkten, daß sie z. B. nach Abstoßung eines reifen Eies dort ebenfalls zur Entwicklung schreiten können.

Beim Übergang der Ovogonien zu den Ovocyten I werden normale Mitosen beobachtet. Auf den Quetschpräparaten wurde die Zahl und Form der Chromosomen festgestellt (vgl. GEIGY, WAGNER 1957). Die meisten Auszählungen der Metaphasechromosomen ergaben die diploide Zahl $2n = 20$. Morphologisch fallen drei

größere, stäbchenförmige, zuweilen etwas gekrümmte Chromosomen von ca. $1,7 \mu$ Länge auf. Die übrigen 17 präsentieren sich als etwa dreimal kürzere, sehr selten etwas schleifenartig gebogene, in der Regel stäbchen- bis kokkenförmige Gebilde (Abb. 7). Vergleicht man diese Garnitur mit dem männlichen Chromosomensatz, wie er bei den Teilungen der Spermatogonien beobachtet wird, so stellt man dort analoge morphologische Verhältnisse fest, nur daß die ebenfalls 20 Chromosomen des Männchens im ganzen etwas größer sind. (Die drei größten messen ca. $3,1 \mu$, vgl. S. 128.) Es läßt sich also bei keinem der beiden Geschlechter auf die Gegenwart morphologisch unterscheidbarer Geschlechtschromosomen schließen. Damit bestätigen wir auch hier wieder die Befunde von I. SOKOLOW (1954), daß bei den Vertretern dieser Gruppe die Heterochromosomen höchstwahrscheinlich fehlen.

Aus den letzten ovogonialen Teilungen (Abb. 12) resultiert die Ovocyte I. Ordnung. Ihr Kern geht sofort, ohne Interkinese, in die meiotischen Prophasestadien über. Alle Phasen der Chromosomenpaarung wurden hauptsächlich auf Quetschpräparaten beobachtet. Das Leptotänstadium wird durch einen Fadenknäuel charakterisiert, welcher den ganzen Kernraum einnimmt. Allmählich differenzieren sich daraus die einzelnen Chromosomenfäden, die sich aber noch nicht in ihrem ganzen Verlaufe verfolgen lassen. Somit könnte es sich um ein Zygonema handeln. Eine jetzt eintretende deutliche Verkürzung der Chromosomenfäden führt zum Pachynema-Stadium. In manchen histologischen Präparaten zeigen sich körnchenartige Verdickungen. Vom Diplotänstadium an, welches sehr schwer erkennbar ist, macht sich eine starke Kontraktion der Chromosomen bemerkbar, die ihren Höhepunkt in der Diakinese erreicht. Die Diakinesestadien sind mit ihren zahlreichen Übergängen am meisten vertreten. Sie sind sehr leicht erkennbar im Gegensatz zu den vorhergehenden Stadien. Die Diakinesechromosomen weisen eine maximale Kontraktion auf und ordnen sich an der Peripherie des Kernraumes an.

Bis hierher zeigt somit die Ovogenese einen normalen Verlauf. Doch im Anschluß an die meiotische Prophase ergibt sich ein durchaus ungewohntes Verhalten der Kernsubstanz und vor allem des Chromatins (vgl. für das Folgende Abb. 12). Sobald sich in der jungen Ovocyte I der Nucleolus zu bilden beginnt, lösen sich die Diakinesechromosomen allmählich auf. Über dem Nucleolus tritt aber eine sehr stark anfärbbare, feulgen-positive Substanz auf, die in Form von eigenartigen Ringen, Klümpchen und Stäbchen auf seiner Oberfläche verteilt ist. Nun setzt die Wachstumsperiode der Ovocyte ein. Im Verlaufe der weiteren Entwicklung der letzteren verschwindet das feulgen-positive Material aus dem Kernraum,

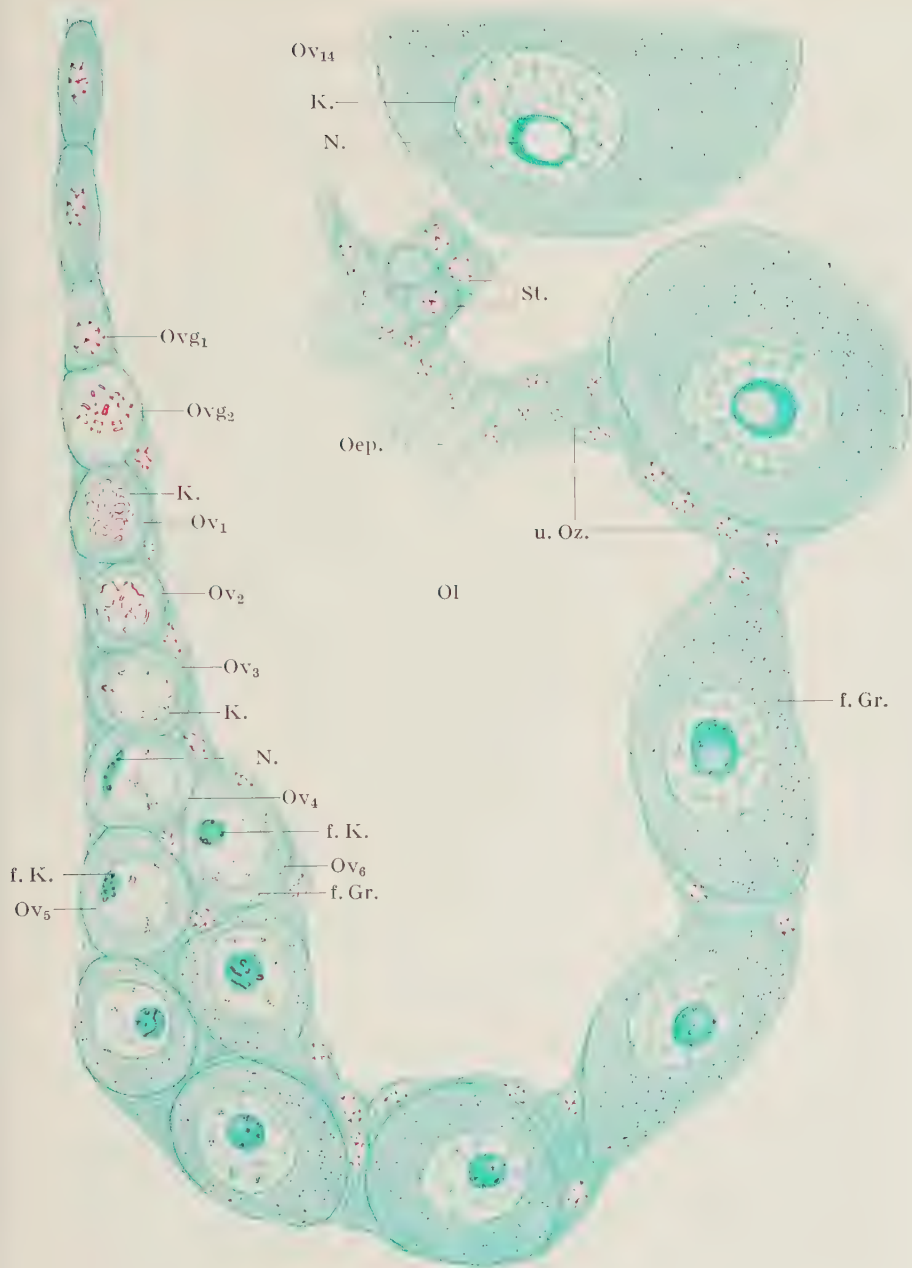


Abb. 12. Längsschnitt durch eine Ovarialwand mit Ovogonien und jungen Oocyten I. Chromatinelimination aus dem Kern (Fix. Carnoy, Färbg. Feulgen-Lichtgrün). Ovg₁: Ovogonie; Ovg₂: Metaphasenstadium in Ovogonie; Ov₁, Ov₂, Ov₃: Prophasenstadien der 1. Reifeteilung in Oocyten I. 1: spätes Leptonema; 2: Zygonema; 3: späte Diakinese; Ov₄, Ov₅: Beginn der Nucleolusbildung (N); auf seiner Oberfläche feulgenpositive Klümpchen (f. K.); Ov₆: Auftreten erster feulgenpositiver Granula (f. Gr.) im Cytoplasma der Oocyte I; Ov₆—Ov₁₄: Wachstum der Oocyte I, Vermehrung der feulgenpositiven Granula im Cytoplasma, Kern (K) wird feulgennegativ; u. Oz. undifferenzierte Ovarialzellen; Oep: Ovarialepithel; St: Stielzellen; Ol: Ovariallumen. Vergr. 875×.

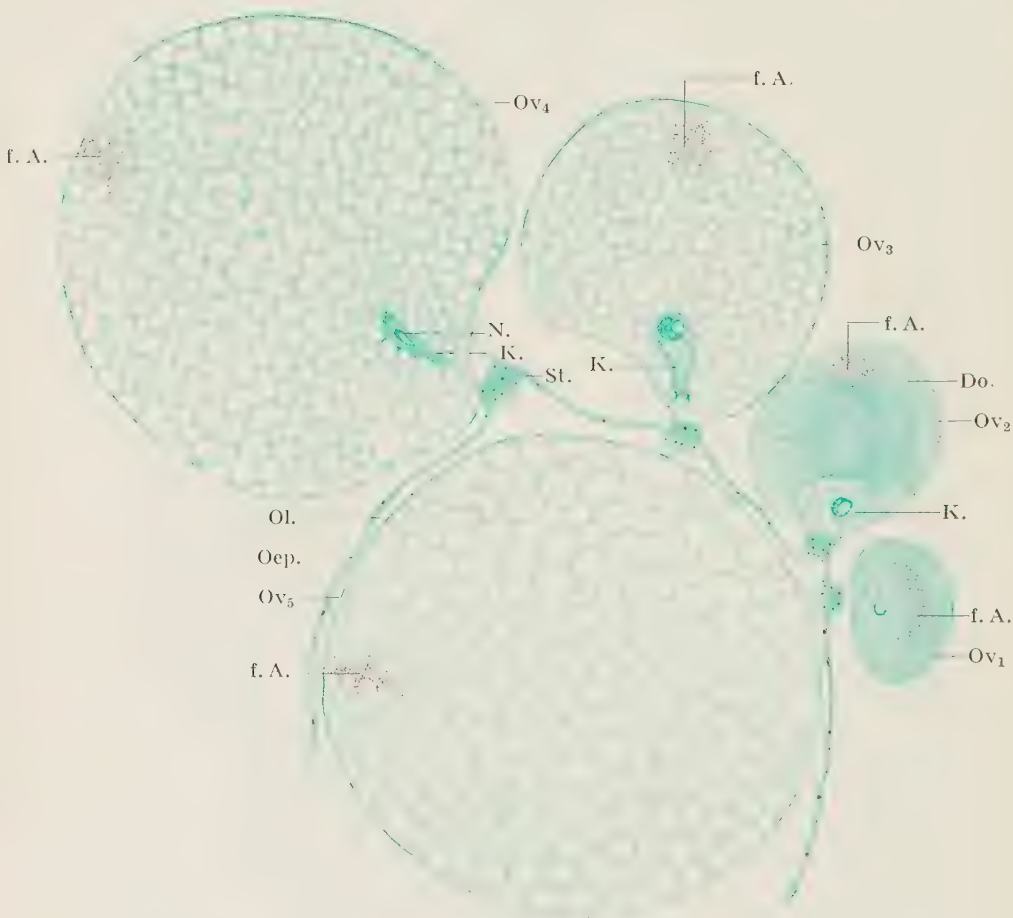


Abb. 13. Längsschnitt durch eine Ovarialwand mit Ovocyten I während der Vitellogenese (Fix. Carnoy, Färbg. Feulgen-Lichtgrün). Ov₁: junge Ovocyte, Beginn der Konzentration der feulgenpositiven Granula; Ov₂: Beginn der Dotterbildung (Do), feulgenpositive Granula als konzentriertes Areal (f. A.); Ov₃ und Ov₄: Vitellogenese und starkes Wachstum der Ovocyte I, Veränderung und Auflösung des Kernapparates; Ov₅: kernlose Eizelle im Ovariallumen (Ol); K: Kern; N: Nucleolus; Oep: Ovarialepithel; St.: Stielzellen. Vergr. 100×.

während die merkwürdige Konzentration des Chromatins über dem Nucleolus immer noch bestehenbleibt. Gleichzeitig mit dem Verschwinden der Chromatinsubstanz aus dem Kern tritt im Cytoplasma der Ovocyte I eine sehr feine, kaum wahrnehmbare Körnelung auf, welche auf die Feulgen'sche Nuclearreaktion anspricht und somit auf Desoxyribonucleinsäuren (= DNA) hinweist. Beim weiteren Wachstum der Ovocyte vermehrt sich die feulgenpositive Körnelung und verteilt sich homogen im Plasma. Der stark an Größe zunehmende Kern weist nun eine feinmaschige, feulgen-negative Struktur auf. Das über dem Nucleolus konzentrierte Chromatin schrumpft während dieser Entwicklung zusammen und verschwindet dann überhaupt. In der Mitte des Nucleolus bildet sich eine geräumige Vakuole aus. Die Ovocyten besitzen also in diesem Stadium einen vollkommen feulgen-negativen, bläschenähnlichen Kern und im Cytoplasma feine, feulgen-positive Granula. Infolge starken Wachstums wird die Ovocyte I aus dem Ovar in die Leibeshöhle vorgeschoben, wobei die äußere Ovarialmembran die noch unbeschaltete Eizelle nach außen umgibt. Man könnte nun von einem extraovariellen «Follikel» sprechen. In der Regel aber besteht ein Follikel aus einem die ganze Eizelle umhüllenden Epithel, das auch die Schale aufbaut. Hier liegen aber die Verhältnisse anders als bei den Insekten. Das von der Ovarialmembran umspannte Ei haftet mittels einiger intensiv färbbarer Stielzellen am Eierstock, und diese letzteren dienen vielleicht als Vermittler beim Aufbau des Dotters. Es ist aber auch möglich, daß die Eier ihre Reservestoffe durch die dünne Membran direkt aus der sie umspülenden Hämolymphe beziehen.

Im Laufe der weiteren Entwicklung der Ovocyte I beginnt sich die bis jetzt gleichmäßig in die Eizelle verteilte feulgen-positive Granula allmählich zu konzentrieren. Sie sammelt sich zunächst zu einem halbkreisförmigen Areal, welches immer über dem Kern gelegen ist (vgl. für das folgende Abb. 13). Mit dem Eintritt der Dotterbildung konzentriert sich das feulgen-positive Areal noch mehr und rückt an die Peripherie der Ovocyte. Es bleibt an dem der Anhaftungsstelle des «Follikels» abgewendeten Pol gegenüber dem Ovocytenkern liegen. Die Dotterspeicherung beginnt an der Peripherie der Eizelle zuerst in Form kleiner Kügelchen, die dann zu immer größeren Dotterkugeln zusammenfließen und schließlich die ganze Ovocyte ausfüllen. Gleichzeitig mit dem Eintritt der Dotterspeicherung setzt die Bildung der Eischale ein. Sie wird, wie schon von LEES und BEAMENT (1948) beschrieben, von der Ovocyte selbst produziert, indem sich an der Oberfläche der Zelle zunächst eine unregelmäßig strukturierte Substanz absondert, welche schließlich zur homogenen micropylenlosen Eischale wird. Im

Verlaufe der Dotterspeicherung, sobald die Ovocyte von großen Dotterkugeln erfüllt ist, beginnt der immer noch feulgen-negative Kern eine Veränderung durchzumachen. Im Nucleolus treten mehrere kleinere Vakuolen auf, der Kern wird länglich und streckt amöboide Fortsätze zwischen die Dotterkugeln aus. Die Ovocyte hat mittlerweile ihre maximale Größe erreicht und ist von der erwähnten Eischale umschlossen. Die Dotterspeicherung ist jetzt abgeschlossen, und die Eizelle befindet sich kurz vor ihrem Eintritt in das Ovariallumen. In diesem Stadium wird die Veränderung am Kern noch prägnanter. Die Kernmembran ist bereits aufgelöst und der Nucleolus zu einem unscheinbaren Klümpchen zusammengeschmolzen, während die Kernsubstanz sich allmählich im Dotter verliert und schließlich vollkommen verschwindet. Somit weisen die im Ovariallumen freiliegenden Eizellen keine Kerne mehr auf, und ihre feulgenpositive Substanz befindet sich an der Peripherie. Der eigentliche Prozeß der Ovulation wurde nicht beobachtet. Mit LEES and BEAMENT (1948) möchten wir annehmen, daß infolge der Aufblähung der Eizelle die sich dehnende Tunica propria einen Zug auf die Stielzellen ausübt, die dadurch auseinanderweichen und das Ei in das Ovariallumen durchtreten lassen. Zu diesem eigenartigen Kernverhalten im Zeitpunkt, wo die Reifeteilungen ablaufen sollten, läßt sich noch beifügen, daß nie die Bildung von Richtungskörperchen beobachtet worden ist. Zudem konnte festgestellt werden, daß die feulgen-positive Granula auch mit den basischen Farbstoffen Hämatoxylin, Delafield und Hämalun färbbar ist.

Im Verlauf der sich nun vollziehenden Wanderung der Eier in den Geschlechtswegen und während ihrem Aufenthalt im Uterus sind keinerlei auffallende Veränderungen feststellbar, weder im Plasma noch im stets vorhandenen feulgenpositiven Areal. Eier, die wir kurz nach der Ablage untersucht haben, sehen genau so aus wie die im Ovidukt oder im Uterus befindlichen.

IV. Die Copulation und ihre Auswirkungen.

1. Copula.

Den Verlauf einer Begattung bei *O. moubata* hat schon NUTTALL (1911) beobachtet und richtig beschrieben, jedoch angenommen, es seien im Spermatophoren lediglich Spermatozoen enthalten, währenddem wir nun wissen, daß es sich um Spermioophoren handelt, deren jeder einen Spermakopf enthält (S. 136). 1942 befaßte sich G. ROBINSON ebenfalls mit der Copulation bei *O. moubata*. Seine Befunde stimmen mit unseren Beobachtungen überein.

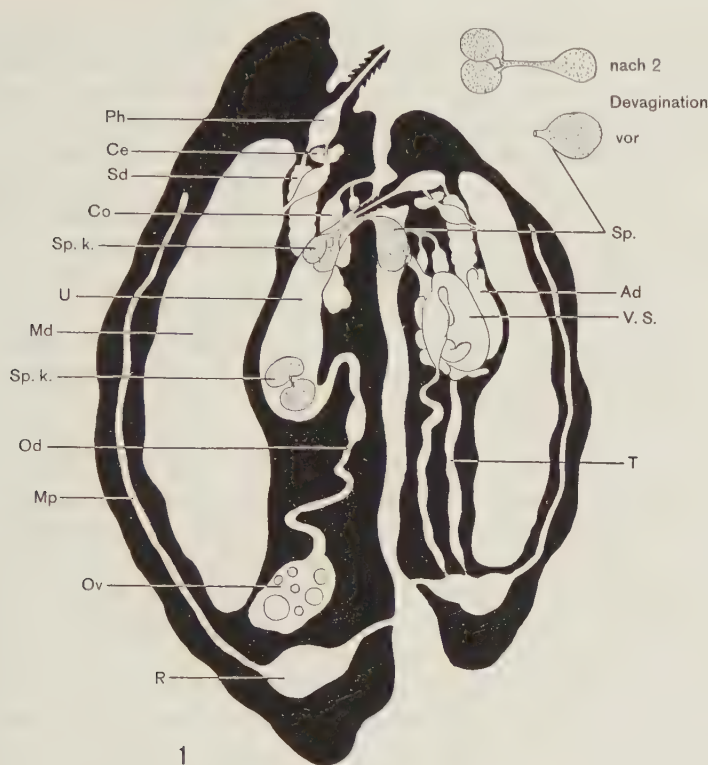


Abb. 14. 1: Schematischer Längsschnitt durch ein copulierendes Zeckenpaar. 2: Spermatophor vor und nach der Devagination. Ad: Anhangdrüse; Ce: Centralganglion; Co: Coxalorgan; Md: Mitteldarm; Mp: Malpighi'sche Gefäße; Od: Ovidukt; Ov: Ovar; R: Rectalampulle; Sp: Spermatophor; Sp.k.: Spermiophorenkapseln oder Doppelblase; Sd: Speicheldrüse; Ph: Pharynx; T: Testes; U: Uterus; V.S.: Vesiculae seminales.

Die Weibchen von *O. moubata* können, unabhängig von einer Blutmahlzeit, irgendwann begattet werden. Zur besseren Übersicht haben wir unsere Beobachtungen über den Begattungsakt in einem schematischen Längsschnitt dargestellt (Abb. 14). Die copulierenden Partner kehren einander die Bauchseite zu, wobei sich das Männchen am Weibchen festklammert; beim genauen Betrachten sieht man jedoch, daß es nicht zu einer Vereinigung der Geschlechtsöffnungen kommt. Das Männchen betastet langsam mit seinen Pedipalpen und dem Hypostom die Ventralseite des Weibchens. Nachdem es die Vulva gefunden hat, schiebt es das Hypostom in die letztere hinein und erweitert durch langsames Hin-und-her-Bewegen die Genitalöffnung des Weibchens. Dieser Vorgang dauert 10—15 Min., d. h. so lange, bis der retortenförmige Sper-

matophor aus der männlichen Öffnung austritt. Sobald dies geschehen ist, krümmt das Männchen sein Hypostom nach hinten und berührt damit die kanülenartige Mündung des Spermatophoren, die am Rüssel hängenbleibt. Das Hypostom wird nun wieder in die weibliche Genitalöffnung hineingeschoben, wobei es den Spermatophorenhals mit in die Vagina einführt. Nunmehr preßt sich das Männchen eng an das Weibchen an, so daß der Inhalt des Spermatophoren in besonderer, noch zu beschreibender Weise in die Scheide vorgestülpt wird. Somit dient in Abwesenheit eines Penis der Rüssel als Begattungsorgan. Damit ist die Copulation vollzogen, und das Männchen verläßt das weibliche Tier. An der Vulva hängt jetzt der leere Spermatophor als kleines, gestieltes Bläschen, das rasch austrocknet und spröde wird.

Um die inneren Vorgänge besser verstehen zu können, haben wir die Copulation im Augenblick des Ausstoßens des Spermatophoren unterbrochen und die am Männchen klebende Kapsel vorsichtig in Insektenringerlösung gebracht. Der Spermatophor ist hier noch weich und elastisch (vgl. S. 138—139), deshalb kann man durch leichtes Drücken auf seine Wandung die Devagination der beiden inneren Bläschen, welche die Spermiophoren enthalten, provozieren. Dieselbe Ausstülpung vollzieht sich, wenn sich das Männchen gegen das Weibchen preßt, nur daß dann die Doppelblase durch den Spermatophorenhals in die Vagina des weiblichen Tieres gerät. Das devaginierte Gebilde wird bald darauf abgeklemmt und findet sich später im Uterus. Die beiden Kapseln sind nie gleich groß. Im Uterus eines einzigen Weibchens konnten wir oft 6 und mehr dieser Doppelblasen finden, die von wiederholten Begattungen herrühren und lange Zeit erhalten bleiben.

Nach JOBLING (1925), den wir bestätigen können, ist ein Männchen nacheinander zur Begattung mehrerer Weibchen befähigt; seine geschlechtliche Aktivität wird durch die Fütterung bekanntlich noch gesteigert.

2. Schicksal der Spermiophoren in den weiblichen Geschlechtswegen.

Bevor noch die Spermiophoren die Spermatophorenblase verlassen, machen sie bestimmte Veränderungen durch. Um dies verfolgen zu können, haben wir Weibchen ungefähr zwei Stunden nach der Copula seziiert. Die in ihrem Uterus gefundenen Doppelblasen wurden auf einem Objektträger in einem Tropfen Insektenringer mit feinen Pinzetten aufpräpariert, worauf die Spermiophoren herausquollen. Beim nachherigen Auflegen des Deckgläschens muß jeglicher Druck vermieden werden, um den Zustand

der Spermiophoren nicht zu verändern. So konnte unter dem Dunkelfeld- oder Phasenkontrastmikroskop der noch nie beobachtete Ausstülpungsprozeß dieser Gebilde in allen Stadien verfolgt werden. Die Weiterentwicklung der Spermiophoren, gewissermaßen *in vitro*, wird garantiert, vielleicht sogar angeregt durch die Anhangdrüsesekrete, welche sich dem Insektenringer beim Eröffnen der Doppelblase beimengen. Auch beim Normalablauf kommen ja die Spermiophoren erst beim Beginn der Copula mit diesen Sekreten zusammen; eine von ihnen ausgehende, die Devagination fördernde Wirkung ist also durchaus denkbar. Der ganze Prozeß beansprucht *in vitro* 15—60 Min. Die verschiedenen Stadien sind in den Zeichnungen (Abb. 11, 4—7 und 9) festgehalten.

Wir knüpfen nun mit unserer Beschreibung beim Zustand der copulationsreifen Spermiophoren an, wie wir ihn auf S. 136 zuletzt geschildert und auf Abb. 11, 2 und 8, dargestellt haben. Vielleicht durch einen Quellungsprozeß der durchsichtigen Schutzhülle veranlaßt, gleitet der handschuhfingerartig eingestülpte Tubus beim Spermiophoren-Hinterende heraus und streckt sich dabei in seiner ganzen Länge aus. Das herausdringende Vorderende schwillt dabei kolbenförmig an und enthält nach wie vor die Mitochondrienmasse. Schließlich hat der Tubus die Hülle schon etwa zu zwei Dritteln abgestreift und zum Teil in Form kugeligter Gebilde abgestoßen; der Spermakopf ist dabei ebenfalls dem Tubus entlang nach hinten geglitten, bis er in einem kleinen Plasmahof, dem Hüllenrest, unmittelbar am Tubusende zu finden ist (Abb. 11, 7). Am Schluß dieser vollständigen Umkrepelung wird der Plasmahof mit dem darin enthaltenen Spermium ruckartig in das Innere des stumpfen Spermiophorendes eingesaugt und bleibt dort liegen (Abb. 11, 9). Die definitive Gestalt des Spermiophoren gleicht also etwa einem überdimensionierten «Samenfaden» von ca. 370 μ Länge, mit einem mitochondrienhaltigen kolbigen Vorderpol, einem filamentartigen Achsenfaden und dem im Schwanzteil untergebrachten, 10 μ langen Spermium, dem er als Träger dient. Soweit die *in vitro* beobachteten Vorgänge. Im Uterus vollzieht sich die Ausstülpung des Spermiophoren *innerhalb* der Doppelblase. Da sich diese, wie wir sahen, nicht auflöst, müssen wir annehmen, daß die mehreren hundert Spermiophoren auf mechanischem Wege, wohl durch Dehizensz der Wandung, aus ihr befreit werden. Erst im Uterus werden die Spermiophoren beweglich, vielleicht unter Einwirkung eines hier vorhandenen Sekretes. Im Insektenringer zeigten nämlich die frisch ausgestülpten Spermiophoren nie Bewegungsfähigkeit, aus den Ovidukten entnommene dagegen waren meist aktiv, ein Umstand, der auch von anderen Autoren (speziell von SOKOLOW 1956) für andere Zeckenarten be-

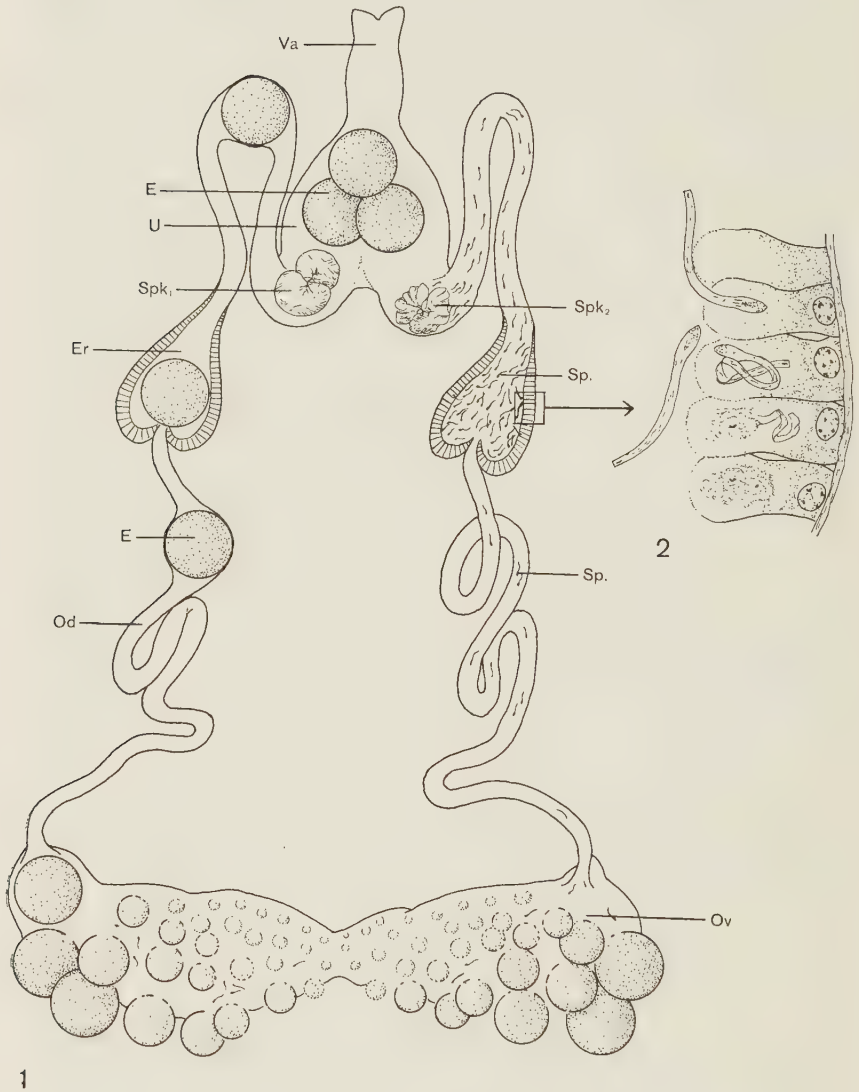


Abb. 15. 1: Funktionelles Schema des weiblichen Geschlechtsapparates. 2: Ausschnitt aus der Wand der Oviduktampulle, Phagozytose der Spermiphoren. E: Ei; Er: Ovidukterweiterung oder Ampulle; Od: Ovidukt; Ov: Ovar; Sp: Spermiphoren; Spk₁: Spermiphorenkapsel oder Doppelblase; Spk₂: sich entleerende Doppelblase; U: Uterus; Va: Vagina.

stätigt wird. Die Bewegung besteht darin, daß nur der Vorderpol peristaltisch seine Form verändert, wodurch ein Vorwärtsgleiten zustande kommt. Das ganze Gebilde ist übrigens sehr elastisch, kann vor Hindernissen umkehren und sich auch um die eigene Achse drehen.

Die so aktivierten Spermiophoren gleiten in die Ovidukte hinunter, erreichen jedoch nur vereinzelt das Ovariallumen. Große Ansammlungen findet man vor allem in den Ovidukterweiterungen (Abb. 15, 1), wo sie, wie wir noch sehen werden, ein besonderes Schicksal erwartet. In gefärbten Ovidukt-Ausstrichen zeigen die Spermiophoren weitere kleinere Veränderungen. An ihrem Hinterende ragt nun ein kleiner Plasmafortsatz aus dem abgestumpften Tubus heraus, dessen eine Seite durch das stäbchenförmige Ende des früher erwähnten Achsenfilamentes wie durch eine Rippe gestützt ist. Das Spermium liegt entweder ganz oder nur zur Hälfte in diesem Plasmafortsatz drin.

3. Versuche zum Nachweis der Befruchtung.

Ein Überblick über die in den vorausgehenden Kapiteln geschilderte Situation beim männlichen und weiblichen *Ornithodoros* ergibt die merkwürdige Tatsache, daß einerseits in den reifen Eiern an Stelle des Kerns ein chromatinhaltiges Areal getreten ist, und daß sich andererseits aus den Spermatiden voluminöse Spermiophoren entwickeln, die am Hinterende das männliche Kernmaterial in Form eines »Spermakopfes« tragen. Man wird sich nun gespannt fragen, wie sich unter diesen Umständen die Besamung der Eier, bzw. die Befruchtungsvorgänge, abspielen werden, soweit überhaupt solche vorhanden sind.

Wohl nicht von ungefähr ist es keinem der eingangs zitierten Autoren, die sich mit der Ovo- und Spermatogenese von Zecken befaßt haben, gelungen, diese Frage in befriedigender Weise abzuklären. Nur K. SAMSON (1909) glaubt in einem einzigen Fall das Eindringen eines »Spermiums« (gemeint ist hier der Spermiophor) in ein Ei von *Ixodes ricinus* in vitro beobachtet zu haben. Es muß sich aber da sehr wahrscheinlich um eine Täuschung handeln, denn es ist an sich ja kaum anzunehmen, daß der große Samenträger vollständig in das Ei einzudringen vermag. Auch SOKOLOV, der neueste Autor auf diesem Gebiet, scheint nicht an die Beobachtung SAMSON's zu glauben, denn er kommt noch 1956 zum Schluß, daß der Befruchtungsvorgang bei den Ixodoidea offenbar viel komplizierter verläuft, als man im allgemeinen annehme, obschon auch er die Erklärung schuldig bleibt.

Auf Grund unserer eigenen Beobachtungen ergab sich zunächst

die folgende Alternative. Entweder lösen sich die Spermiophoren in den weiblichen Geschlechtsgängen irgendwie auf, wodurch die Spermien frei würden und in die Eier eindringen könnten. Oder es sind die Samenträger selbst, welche sich zu den Eiern hinbegeben, auf bestimmte Art mit ihnen in Kontakt treten und dabei die Spermaköpfe übermitteln. Genaueste Untersuchungen der Vorgänge im Uterus, Ovidukt und Ovariallumen auf Schnitten und am Lebenden haben jedoch die Unhaltbarkeit beider Theorien erwiesen. Es ließen sich nämlich in den Lumina der weiblichen Geschlechtsgänge nirgends weder in Auflösung begriffene Spermiophoren noch freie Spermien feststellen. Es liegt auch auf der Hand, daß diese letzteren wohl größte Mühe hätten, überhaupt durch die Eihaut einzudringen, da ja gar keine Mikropyle vorhanden ist; auch fehlt dem Spermium jeder sichtbare Bewegungsapparat. In Eiern, die im Uterus bereitlagen, konnte denn auch in lückenlosen Schnittserien nie ein eingedrungenes Spermium oder ein männlicher Pronucleus nachgewiesen werden. Sicherheitshalber wurden auch in Schnitten durch Eierstöcke begatteter Weibchen Ovarialeier vor der Ovulation, d. h. bevor sich noch ihre Eihaut ausgebildet hatte, untersucht, ohne daß je Befruchtungserscheinungen hätten beobachtet werden können.

Zur Frage, ob die Spermiophoren selbst mit Eiern in Kontakt treten, sind, nach vergeblichem Suchen auf Schnitten, *in vitro*-Versuche angestellt worden. Reife, dem Ovar entnommene, also sicher unbefruchtete Eier sind im Insektenringer mit beweglichen, den Ovidukten entstammenden Spermiophoren zusammengebracht worden. Letztere behalten ihre normale Beweglichkeit während annähernd 24 Stunden und können dank ihrer Größe bei ca. 50-facher binokularer Vergrößerung mühelos beobachtet werden. Wohl zeigten sie eine gewisse Affinität zu den Eiern, sammelten sich in deren Nähe und glitten über deren Oberfläche hinweg. Jedoch konnte nie ein Eindringen im Sinne SAMSON's oder nur ein Anhalten oder Festsetzen an der Eiperipherie festgestellt werden, wobei wir besonders auch auf das den Spermakopf tragende Hinterende achteten. Vorsorglicher Weise haben wir die mit Spermiophoren zusammengehaltenen Eier noch tagelang in Ringer aufbewahrt, um eine uns allfällig entgangene Befruchtung auf Grund von Entwicklungsvorgängen nachträglich noch feststellen zu können. Alle diese Eier gingen nach 2—3 Tagen zugrunde, indem sie sich wohl wegen dem Fehlen der Wachsschicht (siehe LEES und BEAMENT 1948 und AESCHLIMANN 1958) allmählich mit Wasser imbibierten und platzten. Es zeigt sich aber, daß derartige Versuche von *in vitro*-Befruchtung an sich recht wenig Aussicht auf Erfolg haben, weil sich frühzeitig aus dem Ovariallumen entnom-

mene Eier in Ringer gar nicht entwickeln, ob sie nun aus begatteten oder unbegatteten Weibchen stammen. — Wir haben noch auf anderem Wege versucht, zu erfahren, in welchem Abschnitt der weiblichen Geschlechtsorgane eventuell Befruchtung nachgewiesen werden könnte. Wir ließen deshalb einige begattete weibliche Zecken ein gewisses Quantum von Kontroll-Eiern ablegen, bei denen wir später durchwegs eine normale Entwicklung feststellen konnten. Denselben Weibchen entnahmen wir sodann Eier einerseits aus dem Uterus, anderseits aus der zwischen Ovar und Ampulle gelegenen Ovidukt-Strecke. Beide Eisorten zeigten, in Ringer verbracht, längeres Überleben, als wir es eben für die Ovarialeier geschildert haben. Die Uteruseier ließen sich bis zum 15. Tag halten, wobei sich schon nach 2—3 Tagen an ihrer Oberfläche weißliche Flecken bildeten, ähnlich denjenigen, die AESCHLIMANN (1958) für die Normalfurchung beschrieben hat. Die Ovidukteier wurden während ca. 10 Tagen beobachtet, ohne daß sich solche Flecken einstellten. Die histologische Auswertung beider Eigruppen im Alter von 6 Tagen ergab, daß die Ovidukteier vollkommen stationär geblieben waren und immer noch das typische Chromatinareal aufwiesen. Die weißen Flecken in den Uteruseiern entpuppten sich als kernhaltige Zonen. Wir fanden meistens irgendwo im Inneren der Eier, seltener an ihrer Peripherie, in sternförmigen Plasmafeldern liegende, kernartige Gebilde, die bezüglich Größe und Aussehen am ehesten zu vergleichen sind mit den von AESCHLIMANN (1958, Fig. 7, 9, 10 und 11) beschriebenen Vitellophagen. Bis zu einem gewissen Grad können sie auch mit den Kernbildern verglichen werden, wie wir sie später für die parthenogenetischen Eier beschreiben werden (S. 154). Zweifellos handelt es sich hier um Entwicklungsanläufe, die bereits in sich zusammengebrochen waren und nicht einmal zur Bildung eines Blastoderms geführt hatten. Sicher ist aber auch, daß sich diese Eier, wie die im voraus abgelegten Kontroll-Eier, bei normaler Ablage auch normal entwickelt hätten³. Parthenogenese im gewöhnlichen Sinne darf nicht angenommen werden, da die Weibchen ja alle begattet waren. Wichtig erscheint uns auch die Tatsache, daß nur bei solchen Eiern Entwicklungsanläufe möglich waren, die bereits durch die Ampulle hindurchgeglitten waren und sich im Uterus angehäuft hatten.

Folgende eigenartige Beobachtung weist nämlich darauf hin, daß der Ovidukterweiterung im Befruchtungsgeschehen eine besondere Bedeutung zukommen könnte. Bei der Durchsicht histologischer Schnitte von Ovidukten begatteter Weibchen fanden wir, daß die Wandzellen in den früher beschriebenen Ovidukt-Ampul-

³ Nach AESCHLIMANN (1958) entstehen aus Eiern begatteter Weibchen schon 10 Tage nach der Ablage Larven (vgl. S. 153).

len (Abb. 15, 1, 2) bedeutend größer sind als im Rest des Eileiters. Man kann nun regelmäßig beobachten, daß sich diese großen Wandzellen phagocytotisch betätigen, indem Spermiophoren, die in das Lumen der Erweiterung gelangen, sofort von ihnen aufgenommen werden. Der phagocytierte Spermiophor wird zunächst in der Wandzelle aufgerollt und allmählich verdaut. Die Auflösung betrifft zunächst den Spermiophoren ohne den Spermakopf, indem dieser noch längere Zeit erhalten bleibt und dann ebenfalls dahinschwindet. Bis zu diesem Zeitpunkt reagiert er feulgenpositiv. Die meisten Wandzellen sind dann mit einem bis mehreren in Auflösung begriffenen Spermiophoren beladen, wodurch sich ihr Volumen sackartig vergrößert, während der ebenfalls etwas vergrößerte Kern basal gelagert ist. Später entdeckten wir in der Publikation von SOKOLOV (1956), daß auch er bei *Dermacentor marginatus* und *Ornithodoros papillipes* ähnliche Erscheinungen beobachtet hat. Wir werden später auf eine mögliche Deutung dieses Befundes zurückkommen.

V. Diskussion des Befruchtungsproblems.

1. Möglichkeiten einer parthenogenetischen Entwicklung bei Zecken nach früheren Autoren.

ARAGÃO (1912) beschreibt eine von ihm entdeckte Zeckenart, die in Brasilien als Schmarotzer auf Kaltblütern vorkommt, bei der jedoch nie männliche Individuen gefunden wurden. Er nannte sie *Amblyomma agamum*, da er in Versuchen mit Tausenden von Weibchen beobachtete, daß diese ohne Intervention von Männchen, also parthenogenetisch, entwicklungsfähige Eier in großer Zahl ablegten. ARAGÃO kann somit als Entdecker der Parthenogenese bei den Ixodiden gelten.

NUTALL untersuchte 1913, ob bei *Rhipicephalus bursa*, d. h. auch bei einer zweigeschlechtlichen Zeckenart, Parthenogenese möglich ist. Er beobachtete, daß nichtbegattete Weibchen mehr als dreimal länger am Wirt saugten als begattete und dabei trotzdem weniger Blut aufnahmen. Statt bis 7000 legten solche Weibchen höchstens 2000 Eier ab, von denen aber die meisten schrumpften und sich nur zum geringsten Teil entwickelten, auch diese jedoch nur bis zum Larvenstadium, in dem sie zugrunde gingen. Ein späterer detaillierter Versuch, wieder an *R. bursa*, ergab 1914 folgende Resultate: Von 69 Weibchen legten 30 Eier ab, jedoch fanden sich nur in 10 Gelegen entwicklungsfähige Eier, insgesamt 15 296, aus denen wieder nur 218 Larven schlüpften (1,4%), die jedoch nicht aufgezogen werden konnten. NUTALL gibt für die von ihm beobachtete Parthenogenese folgende Erklärung: Um die

Eier zu zählen, tauchte er sie in eine normale Salzlösung und manipulierte sie mit einem feinen Haarpinsel, was nach seiner Auffassung den Anstoß zu dieser künstlichen Parthenogenese hätte geben können.

BODKIN (1918) bekam aus zwei Weibchen von *Amblyomma dissimile* vier parthenogenetische Generationen. In der dritten Generation mit Männchen zusammengebrachte Weibchen lieferten Nachkommen, die in einem Falle aus 6 Weibchen und im anderen aus 14 Weibchen und einem Männchen bestanden. Im Jahre 1934 untersuchte E. BRUMPT erneut diese fakultative Parthenogenese bei *Amblyomma dissimile*; jedoch war das Resultat negativ, indem unbegattete, aber gefütterte Weibchen durchwegs Eier ablegten, die nicht entwicklungsfähig waren. BRUMPT versucht den Gegensatz zu den obigen Befunden von BODKIN damit zu erklären, daß dieser Autor die Art vielleicht nicht genau bestimmt und eventuell mit der obligatorisch parthenogenetischen *Amblyomma agamum* gearbeitet hat.

DAVIS (1951) erhielt in Experimenten mit *Ornithodoros moubata* folgende für uns besonders interessante Resultate: Von 290 unbegatteten Weibchen legten deren 89 Eier ab. In 17 von 89 Gelegen fanden sich entwicklungsfähige Eier, aus denen total 28 Larven schlüpften, von welchen 25 das Adultstadium erreichten. Es waren alles Weibchen; sie konnten durch Männchen begattet werden, und die Nachkommenschaft war zweigeschlechtlich. Er schließt daraus, daß aus parthenogenetischen Eiern nur Weibchen hervorgehen, aus befruchteten Männchen und Weibchen.

2. Eigene Versuche zur Parthenogenese von *O. moubata*.

Zunächst einige Angaben zur Normalentwicklung nach AESCHLIMANN (1958). Nach einer Begattung und Blutmahlzeit legen weibliche Exemplare von *O. moubata* innerhalb von 10—14 Tagen ihre Eier ab. Die Zahl der abgelegten Eier beträgt im Mittel 60 bis 80, kann aber unter 10 und über 250 liegen. Schon nach 6—8 Stunden beobachtet man in den Eiern die ersten Furchungsteilungen und nach ca. 30 weiteren Stunden die Bildung des Blastoderms. Die Embryonalentwicklung schreitet normal weiter, bis nach ca. 10 Tagen eine kleine, noch in der Eischale sitzende Larve gebildet ist. Sie ist unbeweglich und zeichnet sich neben anderen Merkmalen dadurch aus, daß sie nur drei Beinpaare besitzt. Das vierte Beinpaar wird erst beim Übergang zur Nymphe des I. Stadiums gebildet.

Da es uns, wie im vorherigen Kapitel ausgeführt wurde, nicht gelungen ist, normale Befruchtungsvorgänge nachzuweisen, mußte

an die Möglichkeit parthenogenetischer Entwicklung der Eier gedacht werden. Dies vor allem auch im Anschluß an die Resultate von DAVIS (1951), die wir experimentell nachprüfen wollten. Wir haben deshalb 108 unbegattete, vom Nymphen-Stadium an kontrollierte Weibchen durch Fütterung zur Eiablage gebracht. Die jungen Weibchen wurden gruppenweise auf Meerschweinchen angesetzt, wobei es sich zeigte, daß sie im allgemeinen nicht besonders gut saugten und daß die Blutmahlzeit 2—3mal länger dauerte als normal; 20 der jungfräulichen Zecken saugten überhaupt nicht und gingen bald ein. Die 86 mehr oder weniger vollgesogenen Zecken wurden zur Legekontrolle einzeln gesetzt und täglich überprüft. 24 derselben, d. h. 28%, legten Eier ab, 16 davon normal innert 10—14 Tagen, die restlichen 8 Tiere mit Verzögerungen bis zu 67 Tagen. Die Zahl der abgelegten Eier schwankte im normalen Bereich (maximal bis zu 174), nur in zwei Fällen gab es ein sehr kleines Gelege von 13 Eiern, was aber, wie erwähnt, auch bei begatteten Zecken vorkommen kann (Tab. I). Die abgelegten Eier wurden nun mehrere Tage im bewährten Zucht-Klima gehalten und vollkommen in Ruhe gelassen, um den Einwand zu vermeiden, sie seien durch Berühren mit Pinzetten oder Haarpinseln zur künstlichen Parthenogenese angeregt worden (siehe NUTALL 1914, S. 152). Nach ca. 14 Tagen waren die meisten Eier vertrocknet, andere wiederum zeigten Anzeichen von Entwicklung in Form der bereits früher geschilderten weißlichen Flecke im Dotter (S. 151). Auch hier entsprachen auf den Schnittbildern diesen Flecken Zellteilungen, die meist unregelmäßig verliefen und nicht einmal zur Bildung eines Blastoderms, geschweige denn eines normalen Embryos führten. In 9 von 24 Gelegen entwickelten sich von insgesamt 1735 abgelegten Eiern 83 oder 4,65% zu mehr oder weniger gut ausgebildeten Larven (Tab. I), die aber nicht schlüpften. Wir konnten an diesen Larven deutlich die Mundgliedmaßen und Beine sowie auch die weißlich durchscheinende Rectalampulle unterscheiden. Bei 3 etwas größeren Individuen haben wir sogar 4 Beinpaare zählen können, was auf eine Vorbereitung zum Nymphenstadium schließen läßt. Es ist keine genaue teratologische Untersuchung dieser nichtlebensfähigen Individuen durchgeführt worden. Auf Grund von Aufsichts- und Schnittbildern gewinnt man aber den Eindruck, daß in den meisten Fällen die Entwicklung vorzeitig aufgehört hatte (siehe besonders die eingeklammerten Zahlen auf Tab. I) und auf der Stufe eines embryo-larvalen oder, seltenerweise, eines larvo-nymphalen Gebildes stehengeblieben war. Häufig auch erscheinen die chitinierten und gegliederten Extremitäten zu gedrunken, die Mundteile verklumpt, die ganzen Tiere abnormal klein; vielfach liegen zweifellos auch interne Miß-

TABELLE I.

Zusammenstellung der Versuche zur Parthenogenese.
(Zahlen in Klammern bedeuten stark mißgebildete Larven.)

Versuch No. der 24 Zecken	Beginn der Eiablage x-Tage nach Fütterung	Zahl der abgelegten Eier	Zahl der Larven
19	10	129	—
20	10	122	—
22	6	71	—
26	15	86	—
27	11	33	—
29	10	174	6
30	10	53	—
33	12	71	3 (10)
34	67	43	—
35	10	66	—
37	13	36	—
39	10	40	1
40	13	13	—
42	64	51	—
46	41	48	—
47	41	39	—
48	13	123	6
57	18	119	(6)
64	11	13	—
68	18	120	(10)
71	13	60	3 (16)
77	22	64	(5)
78	26	78	—
79	12	83	(17)
		1735	83 = 4,65%

bildungen vor, indem z. B. das zentrale Ganglion oder die Rectalampulle nicht normal ausgebildet oder in der Lage verschoben sind. Diese relativ oberflächlichen Beobachtungen machen es schon verständlich, daß keiner dieser Nachkommen lebensfähig war.

Bei den 72% der Weibchen, die keine Eier legten, ging die Verdauung der Blutmahlzeit außerordentlich langsam vor sich, und sie konnten monatelang so aussehen wie am ersten Fütterungstag. Wir seziierten ein solches Tier 73 Tage nach dem Saugakt und konnten feststellen, daß das Ovar nur sehr kleine Ovocyten ohne jegliche Dotterspeicherung aufwies. Bei einem gleichen, 40 Tage nach der letzten Blutmahlzeit untersuchten Tier waren die Ovidukte angeschwollen wie bei einem begatteten Weibchen, und im Lumen des Ovars befanden sich einige degenerierende, dunkelbraune Eier. Histologische Schnitte durch das betreffende Ovar

TABELLE II.

Zusammenstellung der Ergebnisse verschiedener Autoren zur Parthenogenese bei Zecken.

(Zahlen in Klammern bedeuten stark mißgebildete Larven.)

Autoren	Aragão 1912	Nutall 1915	Bodkin 1918	Brumpt 1934	Davis 1951	Eig. Versuch 1957
Art	Amb. agam.	R. bursa	Amb. diss.	Amb. diss.	O. moubata	O. moubata
Anzahl d. Verst.	1000	69	2	—	290	86
Eierleg. Tiere	alle	30	2	—	89	24
Entw. Gelege	alle	10	2	—	17	9
Zahl der Eier	?	15 296	?	—	?	1735
Entw. b. Larve	alle	218 (1,4 ^{0/0})	?	—	28	19 + (64) (4,6 ^{0/0})
Adulttiere	alle	nicht ent- wicklungs- fähig	4 Genera- tionen	alle steril	25 Weibchen nach Begat- tung nächste Generation zwei- geschlechtlich	nicht ent- wicklungs- fähig

zeigten, daß die Ovocyten zwar ihre Dotterreserven einigermaßen aufbauen konnten, die Eier aber anschließend resorbiert wurden, was sich am deutlichsten im Ovariallumen und auch im Uterus nachweisen ließ. Schon die Dotterbildung der Ovocyten verläuft also ohne Begattung häufig nicht normal.

Im Gegensatz zu DAVIS (1951) gelang es uns also in keinem Falle, aus parthenogenetischen Eiern lebensfähige Larven zu züchten. Unsere Resultate lassen sich also viel eher mit denjenigen von NUTALL (1914) vergleichen. Wir verweisen in diesem Zusammenhang auf den Überblick der Ergebnisse verschiedener Autoren in Tabelle II.

3. Zusammenfassende Diskussion.

a) Tendenz zur Parthenogenese.

Bis jetzt ist erst bei einer einzigen Ixodidenart (*Amblyomma agamum*, ARAGÃO 1912) reine Parthenogenese bekannt. Der Fall einer möglichen Voll-Parthenogenese bei einer zweigeschlechtlichen Argaside (*O. moubata*, DAVIS 1951) scheint uns auf Grund eigener Resultate nicht vollkommen gesichert. Unsere Ergebnisse sind eher mit denen von NUTALL (*Ripicephalus bursa*) vergleichbar, da in beiden Fällen Entwicklungsanläufe bis zu larvo-nymphen, nicht lebensfähigen Gebilden beobachtet wurden. Es entsteht der Eindruck, daß sich die Zecken im Übergang von befruchtungsbedingter Entwicklung zu reiner Parthenogenese befinden.

Dieser Umstand würde auch seinen Ausdruck finden in verschiedenen Absonderlichkeiten betreffend die Bereitstellung und Verwendung der Geschlechtsprodukte.

b) Bedeutung der Copula.

Zweifellos ist für die meisten Ixodoidea die Copula noch unentbehrlich, und zwar in verschiedener Hinsicht. Die normale Dotterbildung und Heranreifung der Eier ist bei *O. moubata* nicht nur von einer Blutmahlzeit, sondern auch von einer Begattung abhängig. Wir möchten die Hypothese aussprechen, daß vielleicht erst bei der Auflösung der Spermien in den phagocytierenden Wandzellen der Oviduktampulle die DNA so erschlossen werden, daß sie sich im Zeckenkörper auswirken können, z. B. im Sinne einer Stimulation der Vitellogenese in den Eizellen. Eine Wiederholung der Copula vor jeder Eiablage ist allerdings nicht nötig, da offenbar der in den Ampullenwänden gespeicherte DNA-Vorrat längere Zeit hinreicht. Man könnte nun vermuten, daß eine stoffliche Beeinflussung des Eierstocks von den Ampullen her über den Ovidukt oder auf dem Blutwege stattfindet. Die Stimulation von Eireifung und Dotterbildung im Ovar könnte außer mit der Fernwirkung männlicher Substanz eventuell auch mit einer Steigerung des Hormonstoffwechsels in Verbindung gebracht werden. Vielleicht werden nämlich durch die Blutmahlzeit, eventuell auch durch die Begattung, innersekretorische Systeme (z. B. Corpora allata, bei Zecken allerdings noch nicht nachgewiesen) angeregt, welche die Dotterbildung beeinflussen, wie das etwa für Insekten bekannt ist.

Die Begattung der Weibchen sichert also eine geregelte Eireifung und Ablage, vor allem auch eine normale Entwicklung der Embryonen zu lebensfähigen Larven. Dies geht aus unseren Parthenogenese-Versuchen eindeutig hervor.

c) Auflösung des Kernapparates im reifen Ei; Bereitstellung der weiblichen Erbsubstanz.

Während des ganzen Wachstums der Ovocyte im Ovar und ihrer Wanderung in den weiblichen Genitalwegen wurde weder eine Reifeteilung noch die Bildung von Richtungskörperchen beobachtet. Nach Ablauf der letzten Ovogonienteilungen bis zu den ersten Furchungsteilungen der abgelegten Eier sind die Chromosomen morphologisch nicht mehr nachweisbar. Dagegen ist bemerkenswert die «Kernflucht» des feulgenpositiven Materials, d. h. der Desoxyribonucleinsäuren, die ja von manchen Genetikern mit der Erbsubstanz identifiziert werden. Sie verlassen den Zellkern

und konzentrieren sich in einem Granulafeld am entgegengesetzten Eipol. Der zurückbleibende, nun feulgennegative Kern samt Nucleolus löst sich auf, interessanterweise allerdings erst, wenn die Dotterbildung seiner Ovocyte abgeschlossen ist. Diese Beobachtungen an *O. moubata* stehen für den Fall der Zecken vorläufig einzig da. Sie sind im Gegensatz zu denjenigen von WAGNER (1892), der bei *Ixodes calcaratus* eine regelrechte Reduktionsteilung mit Richtungskörperchen-Bildung und Kernverschmelzung beschrieben hat. Die beobachtete Kernflucht der DNA bei *O. moubata* ist auch mit keiner der bisher beschriebenen sog. Chromatineliminationen bei anderen Arthropoden zu vergleichen, so z. B. wie sie SEILER (1923) bei Psychiden entdeckt hat. Dort stoßen die Chromosomen der Anaphase der I. Reifeteilung färbbare Teilchen ab, die im Spindelaequator liegenbleiben und später resorbiert werden. Dabei laufen aber alle übrigen Teilungsprozesse normal ab, und der Kern bleibt erhalten. Neuerdings haben L. LISON und N. FAUTREZ-FIRLEFYN (1950) bei degenerierenden *Artemia salina*-Ovocyten ein Auswandern des Chromatins aus dem Kern spektrophotometrisch bestimmt. Es tritt dort in Tröpfchenform aus der Zelle aus, worauf aber die betreffenden Ovocyten zugrunde gehen. Auch dieser Fall läßt sich also mit dem vorliegenden nicht direkt vergleichen. Man ist aber trotzdem versucht, die DNA-Elimination aus dem Kern bei *O. moubata* als eine Art Ersatz für die Reduktionsteilung anzusehen. Vielleicht handelt es sich, wie wir gleich ausführen werden, zudem um die Bereitstellung weiblicher Erbsubstanz im Hinblick auf eine abgewandelte Form von Befruchtung.

d) Bereitstellung der männlichen Erbsubstanz; Befruchtung durch Diffusion?

Durch die Phagocytose in den Wandzellen der Oviduktampullen werden aus den Spermiophoren bzw. Spermien die DNA verfügbar gemacht. Sie sind gut wasserlöslich, und es besteht die Möglichkeit, daß sie aus den Zellen herausdiffundieren und in die durch die Ampulle gleitenden Eier eindringen. In diesem Stadium sind die letzteren für wasserlösliche Stoffe durchlässig, wie dies LEES und BEAMENT (1948) für *O. moubata*-Eier vor der Ablage nachgewiesen haben. Sie sahen sogar große Eiweißmoleküle, wie das Hämoglobin, in solche Eier eindringen. Auch wir haben Imbibition im Ringer festgestellt (S. 150).

Wie diese einer Befruchtung ähnlichen Erscheinungen letztlich interpretiert werden müssen, können erst weitere Beobachtungen und Experimente zeigen. Unsere Hypothese stützt sich einerseits

auf die geschilderten morphologischen Beobachtungen sowie auf die Feststellung, daß der Ampulle als Ort der Spermiophoren-Phagocytose offenbar eine besondere Bedeutung zukommt, um so mehr, als die Eier nach Passage derselben zu Entwicklungsanläufen befähigt sind. Falls die männlichen DNA wirklich durch die Membran des mikropylenlosen Eies eindringen, so würden sie die dort bereits vorhandenen Entwicklungstendenzen (unvollständige Befähigung zur Parthenogenese) stärken und den letzten noch nötigen Anstoß zu nunmehr normaler Entwicklung geben.

VI. Infektions-Versuche.

1. Einleitung.

ROBERT KOCH hat 1905—1906 als erster die Anwesenheit von *Borrelia duttoni* in Eiern von *O. moubata* beobachtet. Seine Entdeckung ist später von einer ganzen Reihe von Autoren bestätigt worden. — Am ausführlichsten hat wohl BURGDORFER (1951) den Verlauf der Infektion in den Nymphen und adulten Weibchen untersucht und beschrieben. Unter anderem konnte er eine große Erregerzahl in den Ovarien der Adulttiere nachweisen, und er bewies, daß auch die Eier solcher Weibchen Borrelien enthielten. Es ergibt sich daraus die Möglichkeit der Weitergabe des Erregers von Generation zu Generation. — Die transovariable Übertragung ist nun von AESCHLIMANN (1958) genauer untersucht worden, und zwar vom Ovar ausgehend bis zu den abgelegten Eiern und den sich entwickelnden Embryonen.

Über die Frage, ob auch männliche Zeckenorgane von Spirochaeten befallen werden können, gab es bis zum Beginn unserer Arbeit keine Anhaltspunkte. Unsere Untersuchungen beschränkten sich hauptsächlich, wie schon zu Beginn des I. Kapitels kurz erwähnt, auf die Verteilung der Erreger in den männlichen Geschlechtsorganen. Dies vor allem, um zu erfahren, ob ein infiziertes Männchen beim Geschlechtsakt mittels Spermatophorenflüssigkeit oder in den Spermiophoren Spirochaeten auf das Weibchen übertragen kann. Eine Analyse dieses Problems lohnte sich schon deshalb, weil sich im Bestätigungsfall eine weitere Möglichkeit zur Verbreitung der Borrelien unter den Zecken ergeben würde. Eine vorläufige Mitteilung über einen Teil unserer Resultate ist 1954 erschienen (vgl. GEIGY, WAGNER und AESCHLIMANN).

2. Material und Technik.

Die zur Infektion benötigten Borrelien stammen aus dem schweizerischen Tropeninstitut in Basel, wo sie in Zecken und Mäusen gehalten werden. Nachschub frischer Stämme von *B. duttoni* erhielten wir aus Tanganyika, wo Prof. Geigy sie in mehreren Lokalitäten gesammelt hat. Er hat dabei Stämme von verschiedener Virulenzstärke festgestellt (vgl. GEIGY, BURGDORFER 1951, GEIGY, MOOSER 1955, GEIGY, MOOSER und WEYER 1956), die sich aber ausschließlich gegenüber dem Warmblüter, nicht aber gegenüber *Ornithodoros* äußerte. Im Institut befindet sich zudem eine reine Zucht sicher nicht infizierter Zecken (vgl. S. 119), die für unsere Versuche besonders wertvoll war.

Das Vorhandensein von Spirochaeten in den Organen männlicher und weiblicher Zecken wurde mit Hilfe eines Dunkelfeldmikroskops und anhand von Giemsa-gefärbten Schnittpreparaten festgestellt. Im ersten Fall wurden die Organstücke in einer 3%-Na-citratlösung auf einem Objektträger gequetscht

und sofort im Dunkelfeld untersucht. Diese Methode bietet den Vorteil der Lebendbeobachtung. Daneben dienten die histologischen Präparate vornehmlich zum genaueren Bestimmen der Infektionsstellen in den Hoden und in der Anhangdrüse. Man konnte allerdings nur bei sehr starken Infektionen die Spirochaeten im Gewebe nachweisen.

Die Infektion der männlichen Zecken wurde durch Füttern an infizierten Mäusen erreicht. Die für die Begattungsversuche verwendeten Weibchen sind vom letzten Nymphenstadium an isoliert gehalten worden, um garantiert jungfräuliche Individuen zu haben. Nach Erreichen des Adultzustandes wurden sie gefüttert und mit je einem Männchen zusammengebracht, das eine spirochaetenhaltige Blutmahlzeit hinter sich hatte. Später wurde durch Sektion endgültig abgeklärt, ob das Männchen infiziert war. Jedem Zeckenpaar wurde während 1—4 Wochen Gelegenheit zu mehrfacher Begattung geboten.

3. Die Infektion der männlichen Geschlechtsorgane.

In einer Serie von 50 infizierten Männchen wurde der Verlauf der Infektion im zentralen Ganglion, in den Coxalorganen und etwa auch in der Haemolymphgeleite verfolgt, besonders aber in den Geschlechtsorganen. Die Speicheldrüsen konnten vernachlässigt werden, da sie bei adulten Zecken einen etwas unzuverlässigen Indikator für die Infektion bilden. Der Genitalapparat wurde aufgeteilt in Hodenwand, Hodeninhalte, Vesiculae seminales und Anhangdrüse. Jeder dieser Teile ist separat auf Spirochaeten untersucht worden. Die auszutestenden Männchen sind in verschiedenen Zeitabständen geopfert worden, und zwar nach 2 Tagen bis nach 3 Monaten vom Infektionstag an gerechnet.

Von den 50 Männchen waren 26 infiziert (22 davon sind aufgeführt auf Tab. III, bis zum Strich), eine genügende Zahl, um den gewünschten Überblick zu erhalten. Tabelle III zeigt, daß der Genitalapparat ähnlich wie die übrigen Organe schon vom 5. Tag an befallen war, und daß sich der Infektionsgrad in der Folgezeit etwas steigerte, jedoch auch noch nach Monaten bestimmte individuelle Unterschiede aufwies. Es macht auch den Anschein, als ob ein gewisser Ausgleich zwischen den Befallsquoten der einzelnen Organe vorläge. Sind z. B. die Haemolymphgeleite oder gewisse Organe schwach infiziert, so sind es andere dafür um so mehr, woraus ein durchschnittlicher Gesamtinfektionszustand der Zecke von ca. ++ resultiert. Bekanntlich gilt das Zentralganglion als ein Hauptattraktor für Borrelien; seine Infektion ist deshalb fast in allen Fällen gesichert, während andere Organe öfters negativ bleiben. Interessanterweise erwies sich nun die Wand des Hodenschlauches fast ebenso attraktiv wie das Ganglion; hier fand man die Borrelien oft zu einem ganzen Teppich vereinigt (Abb. 16 und Abb. 17). Ganz im Gegensatz dazu waren die Wandungen der Vesiculae seminales in der Regel ziemlich spirochaetenarm; sie scheinen den Erreger nur schwach anzuziehen.

TABELLE III.

Infektionsversuche an männlichen Zecken bzw. Übertragungsversuche mittels Copula.
(Auswahl aus den 50 bzw. 148 hierfür verwendeten Männchen.)

(+) = sehr schwache Infektion.

++ = mittelmäßige Infektion.

+ = schwache Infektion.

+++ = sehr starke Infektion.

Vers.- No. infiz. ♂	n-Tage n. d. Infektion		Haemo- lymphe	Central- ganglion	Coxal- organ	Anhang- drüse	Hoden- wand	Über- tragung auf das Weibchen
	Copula	Sektion						
2		5	—	++	++	++	+	
9		14		+++	++	+++	++	
10		14		+		—	—	
12		14		+	(+)	—	—	
14		15	(+)	(+)	—	—	(+)	
16		15		++	—	+	+++	
17		16		+	—	—	—	
18		16		+	—	—	+++	
22		17		++	+	+	—	
26		18		—		—	++	
27		18		+	—	—	—	
28		21		+++	—	++	+	
29		21		+++	—	++	++	
33		23		+++		++	—	
5		20	+	++	+	+++	+++	
34		24		(+)	—	—	—	
35		24		(+)	—	—	—	
36		25		++	—	—	—	
37		25		+	—	—	—	
39		28		++	—	—	—	
41		28		+++	+++	++	+++	
44		36		(+)	+	—	+++	
46	37	60	++	+	+	—	(+)	neg.
48	37	66	++	+	—	—	(+)	neg.
102	24	31		++	++	(+)	+++	neg.
103	24	34	—	++	(+)	—	++	neg.
104	24	36	—	++	—	—	+++	neg.
105	24	37	+	++	++	+++	+++	neg.
106	24	42	+	++		++	++	neg.
107	24	42	+	++	—	—	+++	neg.
108	24	43	+	++	+	—	(+)	neg.
111	27	52	+	+	++	+	++	neg.
112	28	62	++	—	—	—	(+)	neg.
113	42	64	+++	++	+	+	+++	neg.
114	42	65	++	++	—	++	+	neg.
124	46	63	—	++	+	(+)	—	neg.
115	42	66	(+)	++	+	—	—	neg.
116	42	66	+	(+)	—	++	—	neg.
118	42	72	(+)	++	—	+++	+	neg.
119	42	72	++	++	—	++	(+)	neg.
129	46	70	+	++	(+)	+	+	neg.
131	48	71	(+)	+	(+)	(+)	++	neg.
209	24	115	+	++	++	++	++	neg.
210	24	115	+	++	+	++	+	neg.
221	104	115	+	++	—	++	—	neg.
222	104	116	+	++	++	++	+	neg.
223	104	120	+	++	+++	++	+	neg.
201	90	125	+	++	+	++	++	neg.
212	90	125	++	++	++	+++	++	neg.
217	6	26	(+)	++	+	++	+	neg.
220	6	29	+	+	+	(+)	+++	neg.
233	21	25		+	—	++	++	neg.
108	27	49	+	++	+	(+)	+++	positiv
110	27	51		+	—	+	+++	positiv

Was nun den Hodeninhalt anbelangt, so weisen wir auf dessen Beschreibung auf S. 125—126 sowie auf die Abb. 2 und 16 hin. Es zeigte sich auf Schnitten, daß das flache äußere Wandepithel sowie das zwischen den Spermatogonien- und Spermatocytennestern liegende kleinzellige, somatische Zwischengewebe viele Borrelien extracellulär speicherte. Das enge zentrale Lumen jedoch, durch welches die Spermiphoren in die Samenblasen hinunterbefördert werden, ist praktisch spirochaetenfrei. Diese Feststellung wird ergänzt durch die Beobachtung im Dunkelfeld, daß in Ausquetschungen des Hodenschlauches, in welchem sich viele Trümmer des Keimepithels befanden, zahlreiche Borrelien zu finden waren, noch viel mehr aber im zurückbleibenden Wandepithel. Es ist deshalb auch nicht verwunderlich, daß Ausquetschungen des Inhalts der Vesiculae seminales höchstens vereinzelte Borrelien zutage förderten, denn es zeigte sich ja, daß dieses Organ an sich nur schwach attraktiv ist und daß außerdem aus dem Lumen des Hodenschlauches nur ganz ausnahmsweise Spirochaeten eingeschwemmt werden.

Während sich der Spirochaetenteppich in Flachschnitten relativ leicht darstellen ließ, gestaltete sich die Analyse der schwammigen, serösen Anhangdrüsenzellen viel schwieriger. Nur in Quetschpräparaten auf Dunkelfeld ließen sich Borrelien im allgemeinen in mittlerem Häufigkeitsgrad nachweisen. Wir konnten sie somit nicht genauer lokalisieren, wahrscheinlich liegen sie aber auch hier intercellulär.

Schon auf Grund dieser Befunde kann vermutet werden, daß die Chancen relativ gering sind, daß das Ejakulat bzw. der Spermiphorenhalt eines *Ornithodoros* Borrelien enthält. Wir werden gleich auf diesen Punkt zurückkommen.

4. Können bei der Copula Borrelien übertragen werden?

Dieser Frage sind wir in einer andern Versuchsserie nachgegangen. 148 Männchen, die mindestens 6, im Maximum 104 Tage vorher auf infizierten Mäusen eine Blutmahlzeit eingenommen hatten, sind mit ebenso vielen jungfräulichen, spirochaetenfreien Weibchen zusammengebracht worden. Sie vollzogen meist mehrmals die Copula. 41 Männchen erwiesen sich später als nicht infiziert, das Schicksal der Weibchen, die mit den 107 anderen (bei der späteren Autopsie infiziert befundenen) Männchen copuliert hatten, wurde weiter verfolgt⁴. Entweder wurden sie sofort nach der Begattung seziiert und die eingeschobenen Spermiphoren

⁴ GRUEN hat 1950 ähnliche, allerdings nicht näher beschriebene Versuche gemacht, konnte aber nie eine Infektion der weiblichen Zecken erhalten.

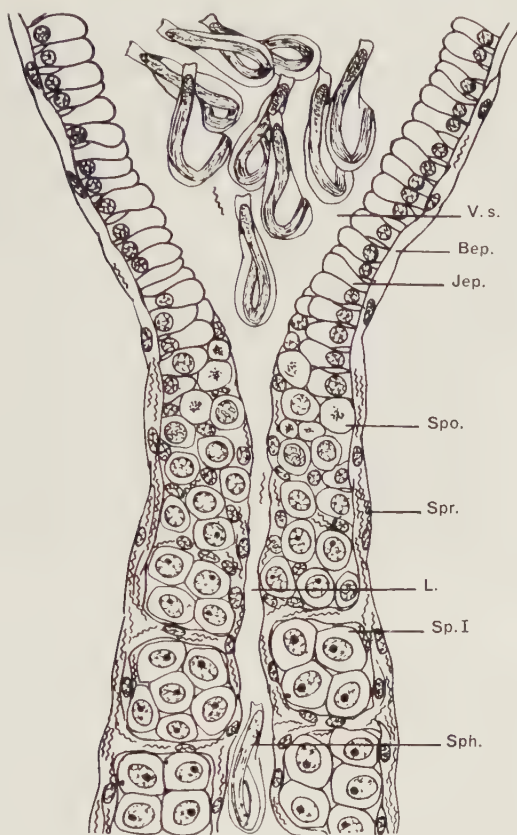


Abb. 16. Schematischer Längsschnitt der Hodenkeimzone mit Spirochaetenbefall. Bep.: Basalepithel; Jep.: Inneres Epithel; L.: Hodenlumen; Sp. I: Spermatocyten I; Sph.: Spermiothor; Spo.: Spermatogonien; Spr.: Spirochaetenteppich; V.s.: Vesiculae seminales.

nach Borrelien durchsucht. In keinem dieser 11 Fälle wurden Spirochaeten gefunden. Die übrigen 96 Weibchen sind erst nach 1, 2, 3 oder 4 Wochen autopsiert worden. Sie enthielten in ihren Uteri oft mehrere (bis zu 8) Spermatophoren-Doppelblasen, was auf wiederholte Copula mit dem betreffenden infizierten Männchen schließen läßt. Dunkelfeldanalysen ihrer Uteri, Ovidukte, Ovarien und Zentralganglien ergaben durchwegs negative Befunde, außer in 2 Fällen (Nr. 109 und 110, Tab. III am Schluß), wo die Weibchen in der Ovidukt wand und im Ovar starken, in der Uterus wand und im Zentralganglion mittelmäßigen Spirochaetenbefall aufwiesen. Die übrigen 94 Weibchen waren alle negativ. In Tabelle III läßt sich feststellen, daß die zugeordneten Männchen (Nr. 46 bis 233) trotz teilweise starkem Spirochaetenbefall in Ho-

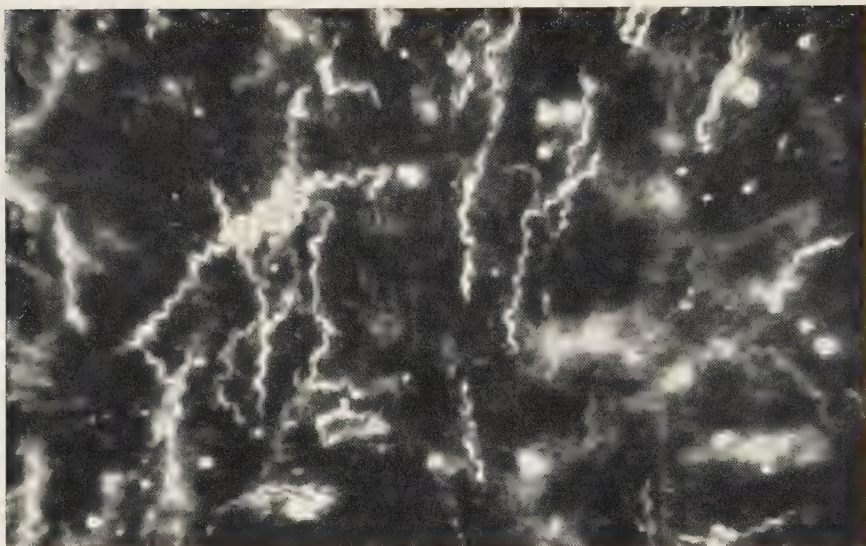


Abb. 17. Spirochaetenteppich in der Hodenwand (Quetschpräparat, Dunkelfeld, Mikrophoto Vergr. 1800 $\times$).

denwand und Anhangdrüsen bei der Copula keine Erreger übertragen haben.

Somit bestätigen sich der in der Fußnote auf S. 162 zitierte Befund von GRUEN (1950) sowie unsere am Ende des letzten Kapitels geäußerte Vermutung. Es kommt offenbar nur äußerst selten einmal vor, daß sich aus der Wand der Hoden, der Vesiculae seminales, oder auch der Anhangdrüsen vereinzelt Spirochaeten lösen, im Spermatophor eingeschlossen und so in das Weibchen eingeführt werden. Vielleicht würde auch eine allzu kleine Zahl derselben nicht genügen, um die Infektion des anderen Geschlechts zu garantieren. Daraus erklärt sich hinlänglich der sehr geringe Prozentsatz von reinen Weibchen, in deren Organen nach Copulation mit infizierten Männchen Borrelien nachgewiesen werden konnten. Ihre Übertragung via Copula wird deshalb kaum wesentlich zur Ausbreitung der Spirochaeten in einer Zeckenpopulation beitragen und somit epidemiologisch nicht ins Gewicht fallen.

VII. Literatur-Verzeichnis.

- ARAGÃO, H. (1912). Beiträge zur Systematik und Biologie der Ixodidae. — Mem. Inst. Oswaldo Cruz 4, 96-119.
- AESCHLIMANN, A. (1958). Développement embryonnaire d'*Ornithodoros moubata* (Murray) et transmission transovarienne de *Borrelia duttoni*. — Acta tropica 15, 15-64.

- ARTHUR, D. R. (1948-49). On the egg of the tick, *Ixodes ricinus*. — *Parasitology* 39, 53-60.
- BODKIN, G. (1918). The biology of *Amblyomma dissimile* (Koch), with an account of its power of reproducing parthenogenetically. — *Parasitology* 11, 10-17.
- BRUMPT, E. (1934). L'ixodiné, *Amblyomma dissimile* du Venezuela ne présente pas de parthénogenèse facultative. — *Ann. Parasit.* 12, 116-120.
- BERTKAU, PH. (1881). Aus der Lebens- und Fortpflanzungsgeschichte unserer Zecke *Ixodes ricinus*. — *Verh. nat.hist. Vereins preuß. Rheinlande u. Westfalen*, Bonn N. 38.
- BONNET, A. (1907). Recherches sur l'anatomie comparée et développement des Ixodidés. 171 p. — Thèse Lyon.
- BURGDORFER, W. (1951). Analyse des Infektionsverlaufes bei *Ornithodoros moubata* (Murray) und der natürlichen Übertragung von *Spirochaeta duttoni*. — *Acta trop.* 8, 193-263.
- CHRISTOPHERS, S. (1906). The anatomy and histology of ticks. — *Scient. Mem. Officers Med. Sanit. Dep. Govt. India (Calcutta)* 23.
- CASTEEL, D. (1917). Cytoplasmic inclusion in male germ cells of the fowl-tick *Argas miniatus* and histogenesis of the spermatozoon. — *J. Morph.* 28.
- DAVIS, G. (1941). *Ornithodoros turicata*: The male, feeding and copulation-habits, fertility, span of life, and the transmission of relapsing fever spirochetes. — *Publ. Hlth Rep.* 56, 1799-1802.
- DAVIS, G. (1951). Parthenogenesis in the Argasid tick *Ornithodoros moubata*. — *J. Parasit.* 37, 99-101.
- GEIGY, R. & BURGDORFER, W. (1951). Unterschiedliches Verhalten verschiedener Stämme von *Spirochaeta duttoni* in der weißen Maus. — *Acta trop.* 8, 151 bis 154.
- GEIGY, R. & HERBIG, A. (1955). Erreger und Überträger tropischer Krankheiten. — *Acta trop. Suppl.* 6.
- GEIGY, R. & MOOSER, H. (1955). Untersuchungen zur Epidemiologie des afrikanischen Rückfallfiebers in Tanganyika. — *Acta trop.* 12, 327-345.
- GEIGY, R. & WAGNER, O. (1957). Ovogenese und Chromosomenverhältnisse bei *Ornithodoros moubata*. — *Acta trop.* 14, 88-91.
- GEIGY, R., MOOSER, H. & WEYER, F. (1956). Untersuchungen an Stämmen von afrikanischem Rückfallfieber aus Tanganyika. — *Acta trop.* 13, 193-224.
- GEIGY, R., WAGNER, O. & AESCHLIMANN, A. (1954). Transmission génitale de *Borrelia duttoni* chez *Ornithodoros moubata*. — *Acta trop.* 11, 81-82.
- GRUEN, H. (1950). Die experimentelle Übertragung von Rückfallfieber-Spirochäten durch *O. moubata*. — *Z. Hyg. Infekt.Kr.* 131, 198-218.
- HELLER, C. (1852). Zur Anatomie von *Argas persicus*. — *S.B. Akad. Wien* 30.
- HOFFMANN & BERLING. (1954). Die Bedeutung des A.T.P. für die Zell- und Kernteilungsbewegungen in der Anaphase. — *Biochim. biophys. Acta* 16, 146-154.
- JOBLING, B. (1925). A contribution to the biology of *O. moubata*. — *Bull. ent. Res.* 15, 213-312.
- KOCH, R. (1906). Über afrikanischer Recurrens. — *Berl. klin. Wschr.* 43, 185 bis 194.
- LEES, A. D. & BEAMENT, J. W. L. (1948). An egg-waxing organ in ticks. — *Quart. J. micr. Sci.* 89, 291-333.
- LISON & FAUTREZ-FIRLEFYN. (1950). Desoxyribonucleic acid content of ovarian cells of *Artemia salina*. — *Nature* 166, 610-611.
- NORDENSKIOELD, E. (1908-9). Zur Anatomie und Histologie von *Ixodes reduvius*. — *Zool. Jb.* 25 & 27.
- NORDENSKIOELD, E. (1910). Zur Ovogenese und Entwicklungsgeschichte von *Ixodes reduvius*. — *Zool. Anz.* 35, 30-35.

- NORDENSKIOELD, E. (1909). Zur Spermatogenese von *Ixodes reduvius*. — Zool. Anz. 34, 511-516.
- NORDENSKIOELD, E. (1920). Spermatogenesis in *Ixodes ricinus*. — Parasitology 12, 159-165.
- NUTALL, G. (1911). The process of copulation in *Ornithodoros moubata*. — Parasitology 4, 39.
- NUTALL, G. (1913). Parthenogenesis in ticks. — Parasitology 6.
- NUTALL, G. (1914). Artificial parthenogenesis in ticks. — Parasitology 7, 457 to 461.
- OPPERMANN, E. (1935). Die Entstehung der Riesenspermien von *Argas columbarum*. — Z. mikr.-anat. Forsch. 37.
- PAGENSTECHER, H. (1862). Zur Anatomie von *Argas reflexus*. — Z. wiss. Zool. 11.
- ROBINSON, G. (1942). The mechanism of insemination in the Argasid tick, *Ornithodoros moubata*. — Parasitology 34.
- ROBINSON & DAVIDSON, J. (1913). The anatomy of *Argas persicus*. — Parasitology 6, 217, 382.
- SAMSON, K. (1909). Zur Spermioghistogenese der Zecken. — S.B. Ges. naturf. Freunde, No. 8, 486.
- SAMSON, K. (1909). Zur Anatomie und Biologie von *Ixodes ricinus*. — Z. wiss. Zool. 93, 185.
- SEIDLER, B. (1940). Vergleichend morphologische Untersuchungen der Eistruktur nahe verwandter Käferarten. — Z. wiss. Biol. 36, 677-744.
- SEILER, J. (1923). Die Chromatinelimination in der ersten Reifeteilung im Ei der Schmetterlinge. — Z. induk. Abstamm. & Vererb.-Lehre 31.
- SHARMA, G. (1944). Studies on spermatogenesis in ticks. — Proc. Nat. Inst. Sci. India 10.
- SOKOLOV, I. (1934). Untersuchungen über die Spermatogenese bei den Arachniden. — Arch. Zellforsch. 21, 43-109.
- SOKOLOV, I. (1954). Chromosomiale Komplexe der Zecken und ihre Bedeutung für die Systematik und Phylogenie. (russ.) — Trud. Leningrad. obsche. jestestwoisp. 72.
- SOKOLOV, I. (1956). Zur Frage der Befruchtung bei den Ixodiden. (russ.) Akad. Nauk. Zool. Journal 35, 4 (511-527).
- SOKOLOV, I. (1957). The origin of the caryomeres during the meiosis in *Ornithodoros papillipes* Bir. (Ixodoidea). — Trav. Soc. Naturalistes Leningrad 73, 46-51 (in russian).
- TUZET, O. & MILLOT. (1937). Recherches sur la spermiogénèse des Ixodes. — Bull. biol. France Belgique 71.
- VITZTHUM, H. (1943). Acarina. in: BRONN's Klassen und Ordnungen des Tierreichs. Bd. 5, Abt. IV, Buch 5.
- WAGNER, J. (1892). Die Embryonalentwicklung von *Ixodes calcaratus*. — Trav. Soc. Nat. St-Petersbourg. Zool. & Physiol. 23, 1-204 (en russe).
- WARREN, E. (1933). On atypical modes of sperm development in certain Arachnids. — Ann. Natal Mus. 7.
- YALVAC, S. (1939). Histologische Untersuchungen über die Entwicklung des Zeckenadultus in der Nympe. — Z. Morph. Oekol. Tiere 35.

VIII. Zusammenfassung.

1. Beim Bestreben, die Frage abzuklären, ob die Spirochaete *Borrelia duttoni* vom Männchen der Argaside *O. moubata* bei der Copula auf das Weibchen übertragen werden kann, hat sich die Notwendigkeit ergeben, die noch

ungenügend bekannten Spermatogenese und Ovogenese sowie die Befruchtungsvorgänge zu studieren.

2. Bei den Reifeteilungen der männlichen Geschlechtsprodukte konnte die Chromosomenzahl $2n = 20$, $n = 10$ festgestellt werden; Geschlechtschromosomen ließen sich nicht unterscheiden. Die Spermatogenese ist außerdem durch die Ausbildung kompliziert gebauter Spermiophoren gekennzeichnet, die in größerer Zahl, in besondere Spermatophorenkapseln eingepackt, vom Männchen in die weibliche Vagina eingeschoben werden. Bei der Ausbildung des Spermatophors spielt die voluminöse Anhangdrüse eine wichtige Rolle.

3. Bei der Copula wird der Spermatophor in die weiblichen Geschlechtsgänge hineingepreßt, und bald darauf befreien sich aus ihnen die Spermiophoren und steigen aktiv in die Eileiter auf. In einer Erweiterung dieser letzteren, der sog. Ampulle, werden sie von den Wandzellen phagocytiert, wobei der eigentliche Spermakopf bzw. die in ihm enthaltenen DNA freigesetzt werden.

4. Auch die Ovogenese ist durch ungewöhnliches Kernverhalten charakterisiert. Bis in die Ovocyten I hinein können normale Chromosomengarnituren mit $2n = 20$ beobachtet werden. Es kommt jedoch in den Ovocyten zu keiner Reifeteilung, sondern zu einer Auflösung des Kernapparates. Dabei wird zwischen den sich bildenden Dotterkugeln am einen Eipol ein feulgenpositives, granulöses Feld gebildet, welches auf Grund von DNA-Granula zustande kommt, die aus dem (später degenerierenden) Kernbläschen ausgeschieden worden ist.

5. Die Eier von *O. moubata* sind zur Parthenogenese befähigt. Es handelt sich aber wahrscheinlich nur um Entwicklungsanläufe, die nach unseren Beobachtungen nicht über die Bildung schlupffähiger Larven hinausgeht. Von begatteten Weibchen abgelegte Eier entwickeln sich durchwegs schneller und normal. Trotzdem konnte in den Genitalwegen der Weibchen nirgends eine Besamung der mikropylen Eier festgestellt werden. Es wird vermutet, daß sich im Moment, wo die Eier die Oviduktampulle passieren, ein Prozeß abspielt, der eine Art Befruchtungersatz darstellen würde, indem die in den Wandungszellen gespeicherten männlichen DNA in die Eier hineindiffundieren.

6. Mit diesen Grundlagen ausgerüstet, konnte die Frage der Borrelien Übertragung anlässlich der Copula eingehend untersucht werden. Man stellte zunächst fest, daß die Hodenschläuche der Männchen für die Borrelien fast ebenso stark attraktiv sind wie das Centralganglion. In ihnen werden die beim Blutsaugakt via Darmwand in die Leibeshöhle gelangenden Borrelien in dichten Teppichen gespeichert. Auch die Vesiculae seminales und Anhangdrüse sind für die Spirochaeten mehr oder weniger attraktiv. Trotzdem kommt es nur ganz selten vor, daß einmal vereinzelte Borrelien ins Atrium genitale gelangen und dort mit Spermiophoren in den sich bildenden Spermatophoren eingeschlossen werden. Copulationsversuche zwischen infizierten Männchen und reinen Weibchen haben denn auch nur in ganz seltenen Fällen (2 von 107 = 1,8%) zur Infektion der letzteren geführt. So dürfte denn dieser Übertragungsmodus via Copula epidemiologisch praktisch keine Rolle spielen.

Curriculum vitae.

Am 19. Juli 1926 bin ich, Olga Wagner geb. Jevseenko, als Tochter der Drs. med. Dimitri Jevseenko und Helene geb. Leskow in Pinsk (ehemaliges Polen) geboren, wo meine Eltern eine Klinik besaßen. 1951 erwarb ich durch Heirat die deutsche Staatsangehörigkeit. Mein Vater lebt in Boleslawiec, Polen, meine Mutter in Dornach, Solothurn.

In Pinsk besuchte ich die Primarschule und anschließend das französische Lyceum in Warschau. Infolge der politischen Ereignisse absolvierte ich die deutschen Oberschulen in Warschau (1940—42), in Graz (1942—44) und in Ravensburg (1945—46), wo ich im Frühling 1946 die Reifeprüfung bestand.

Das Studium der Zoologie als Hauptfach mit den Nebenfächern Chemie, Botanik und Bakteriologie, begann ich an der Universität Freiburg im Breisgau im Wintersemester 1946/47 und setzte dasselbe vom Wintersemester 1948/49 an in Basel fort. Die vorliegende Dissertation entstand unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. R. Geigy am Schweizerischen Tropeninstitut in Basel. Während meiner Studienzeit besuchte ich Vorlesungen und Praktika folgender Dozenten: Erlenmeyer, Geiger-Huber, Geigy, Handschin, Hediger, Köhler, Lüscher, Mahler, Mislin, Mooser, Nüesch, Oehlers, Portmann, Staudinger und Tomcsik.